

SERIE A, N° 1019

N° D'ORDRE :

1043

---

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES  
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

PAR

Shanti KASATIYA

---

1ere THESE. - "CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA LYSOGENIE  
DE LA LYSOTYPIE ET DE LA COLICINOGENIE  
DU SEROTYPE ENTEROPATHOGENE 0119 : B14  
D'ESCHERICHIA COLI".

2eme THESE. - PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE.

---

Soutenues le 5 JUIN 63 devant la Commission d'Examen.

MM. LWOFF

Président.

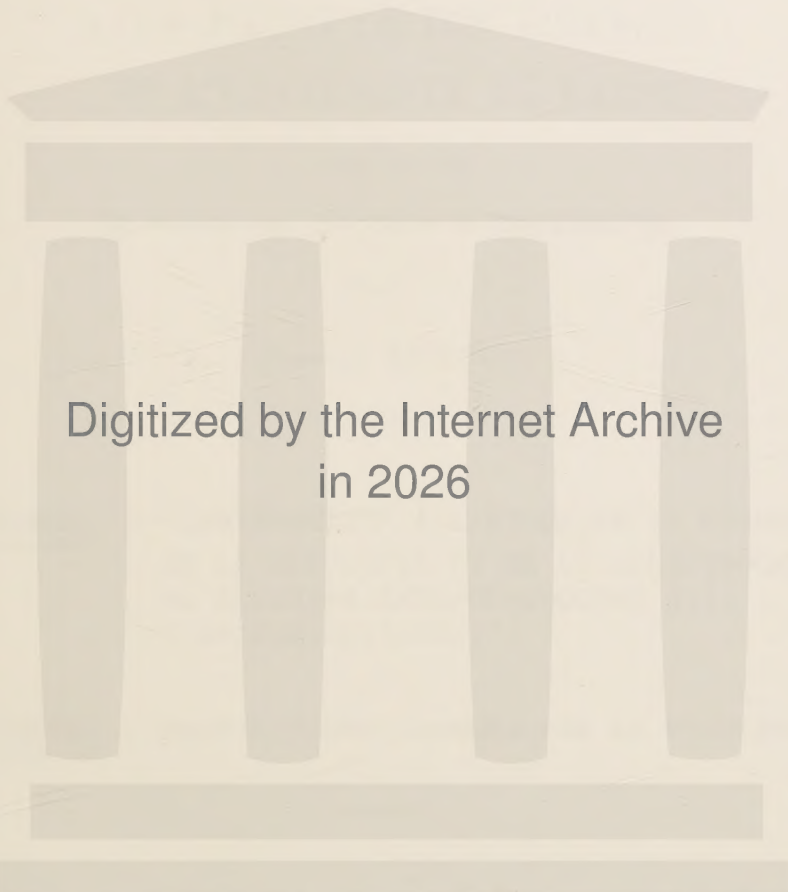
SCHAEFFER

DUBERT

} Examineurs.

---





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41552218\\_0020](https://archive.org/details/IA41552218_0020)



# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES  
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

PAR

Shanti KASATIYA

---

1ere THESE. - "CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA LYSOGENIE  
DE LA LYSOTYPIC ET DE LA COLICINOGENIE  
DU SEROTYPE ENTEROPATHOGENE 0119 : B14  
D'ESCHERICHIA COLI".

2eme THESE. - PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE.

---

Soutenues le 5 JUIN 63 devant la Commission d'Examen.

MM. LWOFF

Président.

SCHAEFFER

DUBERT

} Examineurs.





FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

- PROFESSEURS -

Doyen.....M. ZAMANSKY.

|                 |                                               |
|-----------------|-----------------------------------------------|
| G. JULIA.....   | T Analyse supérieure et Algèbre<br>supérieure |
| PRENANT.....    | T Anatomie et Histologie comparée             |
| GRASSE .....    | T Evolution des êtres organisés               |
| PREVOST .....   | T Chimie organique                            |
| WYART.....      | T Minéralo et Cristallo.                      |
| TEISSIER.....   | T Zoologie                                    |
| MANGENOT.....   | T Biologie Vég. (Orsay)                       |
| AUGER.....      | T Physique quantique et relativité            |
| MONNIER.....    | T Physiologie Générale                        |
| PIVETEAU.....   | T Paléontologie                               |
| ROCARD.....     | T Physique (E.N.S.)                           |
| CARTAN.....     | T Mathématiques (E.N.S.)                      |
| LAFFITTE.....   | T Chimie générale                             |
| FAVARD.....     | T Géométrie supérieure                        |
| COULOMB.....    | T Physique du Globe                           |
| Mie COUSIN..... | T Biologie Animale (SPCN)                     |
| CHRETIEN.....   | T Chimie minérale                             |
| DRACH.....      | T Zoologie                                    |
| KASTLER.....    | T Physique (E.N.S.)                           |
| EPRUSSI.....    | T Génétique                                   |
| RIVIERE.....    | T Géologie SPCN & Sédim.                      |
| GAUTHERET.....  | T Biologie Vég. (PCB)                         |
| LUCAS R.....    | T Recherches Physiques                        |

|                               |                                                |
|-------------------------------|------------------------------------------------|
| THOMAS A.....                 | T Biologie cellulaire                          |
| ARNULF.....                   | T Optique appliquée                            |
| MORAND.....                   | T Physique Enseignement                        |
| SOLEILLET.....                | T Physique (P.C.B.)                            |
| FORTIER.....                  | T Mécanique Exp. des Fluides                   |
| DANJON.....                   | T Astronomie                                   |
| PETIT.....                    | T Biologie maritime                            |
| QUENEY.....                   | T Météorologie et dynamique atmos-<br>phérique |
| GALLIEN.....                  | T Embryologie                                  |
| EICHHORN.....                 | T Botanique                                    |
| DE CUGNAC.....                | T Biologie Vég. (SPCN)                         |
| M <sup>le</sup> CAUCHOIS..... | T Chimie Physique                              |
| THELLIER.....                 | T Physique du Globe                            |
| L'HERITIER.....               | T Biologie Gén. (Orsay)                        |
| GRIVET.....                   | T Radioélectricité (Orsay)                     |
| PONCIN.....                   | T Mécanique Générale                           |
| DUBREIL.....                  | T Arithm. & Théorie des Nombres                |
| QUELET.....                   | T Chimie Organique                             |
| CAGNIARD.....                 | T Géophysique appliquée                        |
| CHAMPETIER.....               | T Chimie macromoléculaire                      |
| CUVILLIER .....               | T Micropaléontologie                           |
| JUNG.....                     | T Pétrographie                                 |
| TRILLAT.....                  | T Microscopie et diffraction<br>électronique   |
| WIEMANN.....                  | T Chimie organique & struc.                    |
| JACQUINOT.....                | T Spectroscopie et Physique<br>céleste (Orsay) |
| VASSY.....                    | T Physique de l'atmosphère                     |
| DESTOUCHES.....               | T Théories Physiques                           |
| AMIEL.....                    | T Chimie générale                              |
| HOCART.....                   | T Minéralogie et Cristallo                     |
| J.P. MATHIEU.....             | T Physique Optique                             |
| COUTEAUX.....                 | T Biologie animale (P.C.B.)                    |
| MAY.....                      | T Zoologie (Orsay)                             |

|                                |                                                    |
|--------------------------------|----------------------------------------------------|
| CHOQUET.....                   | T Théorie des fonctions et Topologie               |
| FELDMANN.....                  | T Biologie Végét. marine                           |
| GUINIER.....                   | T Physique des solides (Orsay)                     |
| JOST.....                      | T Physiologie comparée                             |
| FORTET.....                    | T Calcul des Probabilités et physique mathématique |
| SCHARTZ.....                   | T Calcul diff. et Intégral                         |
| CHOUARD.....                   | T Physiologie végétale                             |
| MALAVARD.....                  | T Aviation (Techn. Aéronaut).                      |
| BRELOT.....                    | T Calcul diff. et Intégral                         |
| NORMANT.....                   | T Chimie organique                                 |
| BENARD.....                    | T Chimie Minérale                                  |
| BUVAT.....                     | T Botanique (E.N.S.)                               |
| DUGUE.....                     | T Statistiques Mathématiques                       |
| SOULAIRAC.....                 | T Psychophysiologie                                |
| ULRICH.....                    | T Physiologie végétale                             |
| MARECHAL.....                  | T Optique théori. & appliq.                        |
| KIRRMANN.....                  | T Théories Chimiques                               |
| CHADEFAUD.....                 | T Botanique                                        |
| M <sup>le</sup> LE BRETON..... | T Physio. de la nutrition                          |
| SALEM.....                     | T Mathématiques générales                          |
| LELONG.....                    | T Application de l'analyse à la géométrie          |
| DEVILLERS.....                 | T Anatomie et Histol.                              |
| EHRESMANN.....                 | T Topologie Algébrique                             |
| FRANCON.....                   | T Physique (SPCN)                                  |
| GIANGEAUD.....                 | T Géographie Phys. & Géol. dynamique               |
| GODEMENT.....                  | T Mathématiques (M.P.C.)                           |
| PISOT.....                     | T Tech. Mathém. de la Phys.                        |
| ROCH.....                      | T Géologie                                         |
| SCHATZMAN.....                 | T Astrophysique                                    |
| TERMIER.....                   | T Paléontologie stratig.                           |
| ZAMANSKY.....                  | T Mathématiques générales                          |

|                            |                                                     |
|----------------------------|-----------------------------------------------------|
| LENNUIER.....              | T Physique (M.G.P.)                                 |
| RIZET.....                 | T Génétique                                         |
| ROUTHIER.....              | T Géologie appliquée                                |
| Mme TONNELAT.....          | T Physique théorique                                |
| DIXMIER.....               | T Mathématiques (MPC)                               |
| SOUCHAY.....               | T Chimie Générale                                   |
| AIGRAIN.....               | T Electrotechnique gén.                             |
| BRUSSET.....               | T Chimie systématique                               |
| M. LEVY.....               | T Physique théorique des hautes<br>énergies (Orsay) |
| Mme CHAIX.....             | T Chimie biologique                                 |
| Mme HUREL-P.....           | T Biologie végétale (P.C.B.)                        |
| PIAUX.....                 | T Chimie (M.P.C.)                                   |
| BRUN.....                  | T Mécanique théorique des Fluides                   |
| LEDERER.....               | T Chimie biologique                                 |
| Mme DUBREIL.....           | T Mathématique (Agrég.)                             |
| Mme LELONG.....            | T Mathématiques II (ENS)                            |
| BELLAIR <sup>1</sup> ..... | T Géologie (SPCN)                                   |
| COTTE.....                 | T Physique électricité                              |
| DUBOIS J.E.....            | T Chimie organique                                  |
| LAMOTTE.....               | T Zoologie (ENS)                                    |
| MICHEL A.....              | T Chimie minérale (Orsay)                           |
| OLMER.....                 | T Energétique générale                              |
| ROUAULT.....               | T Electricité (Orsay)                               |
| GAUTHIER.....              | T Mécanique appliquée                               |
| BARCHEWITZ.....            | T Chimie Physique                                   |
| BROSSEL.....               | T Physique atomique                                 |
| BUSER.....                 | T Physiologie comparée                              |
| CAMUS.....                 | T Physiol. Végétale BMPV                            |
| CASTAING.....              | T Physique II Thermod. Orsay                        |
| CURIEN.....                | T Minéralo. & Cristallog.                           |
| MOYSE.....                 | T Physiologie végét. Orsay                          |
| NOIROT.....                | T Evolution des Etres Org.                          |
| PANNETIER.....             | T Chimie générale                                   |

|                        |                                                     |
|------------------------|-----------------------------------------------------|
| POSSOMPES.....         | T Zoologie                                          |
| PULLMANN.....          | T Chimie quantique                                  |
| TEILLAC.....           | T Physique Nucl. et Radio-activité                  |
| TONNELAT.....          | T Biologie Physico-chim.                            |
| VILLE.....             | T Econométrie                                       |
| WILLEMART.....         | T Chimie (P.C.B.)                                   |
| DODE.....              | T Chimie (Orsay)                                    |
| FREYMANN.....          | T Recherches Physiques                              |
| GUINOCHE.....          | T Biol. vég. SPCN (Orsay)                           |
| ROLLET.....            | T Chimie minérale                                   |
| Mlle JOSIEN.....       | T Chimie SPCN                                       |
| CHEVALLEY.....         | T Géométrie algéb. et théorie des<br>groupes        |
| ARNOULT.....           | T Electronique (Orsay)                              |
| CHAPELLE.....          | T Physique (Orsay)                                  |
| DELANGE.....           | T Mathématiques I (Orsay)                           |
| DENY.....              | T Mathématiques Génér. Orsay                        |
| GERMAIN.....           | T Mécanique théor. des fluides                      |
| LUCAS G.....           | T Géologie                                          |
| ALLARD.....            | T Chimie Physique                                   |
| BERTHE OT.....         | T Phys des particules Fond.                         |
| BRICARD.....           | T Météor. et Phys. de l'Atmosphère                  |
| Mme ALBE-FRESSARD..... | T Psychophysiologie                                 |
| FRIEDEL.....           | T Physique des solides                              |
| FRIEDEL.....           | T (Orsay)                                           |
| M. JULIA.....          | T Etudes des Moléculaires naturel-<br>les complexes |
| LENDER.....            | T Biologie Anim. SPCN Orsay                         |
| MAGAT.....             | T Physico-Chimie des radio-éléments                 |
| Mlle QUINTIN.....      | T Electrochimie                                     |
| MONOD.....             | T Chimie du métabolisme                             |
| BENOIT.....            | T Physiol. anim. (Orsay)                            |
| DE POSSEL.....         | T Analyse numérique                                 |
| CHARLOT.....           | T Chimie analytique                                 |
| LEMEE.....             | T Physiol. Vég. BMPV (Orsay)                        |

|                         |                                                                               |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| GUERIN.....             | T Chimie MPC (Orsay)                                                          |
| CHATELET M.....         | T Chimie PCB                                                                  |
| JEAN.....               | T Physique Nucléaire Orsay                                                    |
| MATTLER.....            | T Physique SPCN                                                               |
| BERGERARD.....          | T Zoologie (Orsay)                                                            |
| BERTIN.....             | T Electronique (Orsay)                                                        |
| BOUISSIÈRES.....        | Chimie des radioéléments. (Orsay)                                             |
| Mme COUTURE.....        | T Thermodynamique et Méc. Physique                                            |
| ELLENBERGER.....        | T Géologie des grandes régions du globe                                       |
| FRANC.....              | T Biologie animale PCB                                                        |
| SCHNELL.....            | Botanique tropicale (Orsay)                                                   |
| STOLKOWSKI.....         | T Physiologie végétale                                                        |
| ACHER.....              | Chimie biol. (Orsay)                                                          |
| BAUDOIN.....            | Biologie animale PCB                                                          |
| BEAUMONT.....           | Biologie animale SPCN                                                         |
| BLAMONT.....            | T Géophysique ionosphère                                                      |
| BOURREAU.....           | Botanique                                                                     |
| CURIE D.....            | Physique MGP                                                                  |
| DURAND-DELGA.....       | T Géologie                                                                    |
| FREON.....              | T Chimie organique (Orsay)                                                    |
| HELLER.....             | T Physiolog. végétale                                                         |
| TORTRAT.....            | T Calcul des Probabilités                                                     |
| CAULLEUX.....           | Géologie (SPCN)                                                               |
| MAGNAN.....             | T Physique SPCN                                                               |
| DAUDEL.....             | T Mécanique ondulatoire appliq. à la chimie théorique & à la Phys. Nucléaire. |
| Mlle FOURCROY.....      | Biologie Végétale SPCN                                                        |
| Mme CHOQUET-BRUHAT..... | T Mécan. Analytique et méca. céleste.                                         |
| Mlle VEIL.....          | Physiologie Générale                                                          |
| LWOFF.....              | T Microbiologie                                                               |
| SIESTRUNK.....          | T Mécan. Phys. & Experim.                                                     |
| LACOMBE.....            | T Métallurg. des métaux nucléaires                                            |
| BROCHARD.....           | T Physique PCB (Orsay)                                                        |

|                         |                                          |
|-------------------------|------------------------------------------|
| CABANNES.....           | T Mécanique générale                     |
| LESIEUR.....            | T Mathématiques I (Orsay)                |
| MAZET.....              | T Mécanique générale (Orsay)             |
| CAIRE.....              | Géographie phys. et Géolog. Dynamique    |
| COMOLET.....            | T Mécanique des fluides                  |
| CORABOEUF.....          | Physiologie animale Orsay                |
| DELLOUE.....            | Physique de l'exosphère                  |
| GORENFLOT.....          | Botanique II (Orsay)                     |
| HOUILLON.....           | Biologie animale PCB                     |
| JULLIEN J.....          | Chimie SPCN (Orsay)                      |
| MALGRANGE.....          | T Technique Math. de la Physique (Orsay) |
| OLIVIER.....            | Antropologie                             |
| NOZERAN.....            | T Botanique II (Orsay)                   |
| BLANC-LAPIERRE.....     | T Physique ENS (Orsay)                   |
| CHEVAUGEON.....         | T Botanique (Orsay)                      |
| KAHANE.....             | T Mathématiques (Orsay)                  |
| SAMUEL.....             | T Mathémat. ENS féminines                |
| KOURGANOFF.....         | T Astronomie (Orsay)                     |
| THIRY.....              | T Mécanique céleste                      |
| ABELES.....             | Physique SPCN                            |
| AMAT.....               | Physique PCB                             |
| AUBOIN.....             | Géologie                                 |
| Mme BENOIT-GUEUTAL..... | Physique Nucl. et radioactivité          |
| BOUGIS.....             | Biologie marine (Villefranche/mer        |
| BRUHAT.....             | T Mathématiques MPC                      |
| BRUNN.....              | T Géologie historique (Orsay)            |
| CHABBAL.....            | Physique MGP (Orsay)                     |
| DEHEUVELS.....          | T Mathématique Propé. (Orsay)            |
| D'ESPAGNAT.....         | Physique théorique (Orsay)               |
| FURON.....              | Géologie SPCN                            |
| Mme GANS.....           | T Génétique                              |
| GENEVES.....            | Biologie végétale PCB                    |
| GUILBERT.....           | Physique (CUS Orléans)                   |

|                 |                                |
|-----------------|--------------------------------|
| HUPE.....       | Pétrographie                   |
| HOLLANDE.....   | T Biologie générale            |
| LIONS.....      | T Analyse numérique            |
| MAITTE.....     | Chimie PCB                     |
| MEYER.....      | Physique propédeutique         |
| NICOLAS.....    | Géologie appliquée             |
| PANIGEL.....    | Biologie générale              |
| RAVIER.....     | Pétrographie                   |
| ROSEAU.....     | T Mécanique théor. des fluides |
| ROUBINE.....    | Electronique                   |
| SILBER.....     | T Chimie P.C.B.                |
| JEBERSFELD..... | T Electronique                 |
| YVON.....       | T Théories Physiques.          |

Le Secrétaire Général.....

R. POULLAIN

As a mark of deep affection

I offer this work to my  
Brother and Sister-in-law,

for their encouragement, material  
and moral support throughout my life.



A Monsieur le Professeur André LWOFF,  
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris,  
Chef de Service à l'Institut Pasteur,

Qui m'a fait le grand honneur  
d'accepter la Présidence de cette  
thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'hom-  
mage de ma respectueuse recon-  
naissance pour les conseils qu'il a  
bien voulu me donner, ainsi que  
pour toutes les marques de sa bien-  
veillance.



A Monsieur le Docteur Pierre SCHAEFFER,  
Maître de Conférences à la Faculté des Sciences  
de Paris,  
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur,

A Monsieur le Docteur Jean-Marie DUBERT,  
Maître de Conférences à la Faculté des Sciences  
de Paris,  
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur,

En témoignage de ma vive gratitude.



A Monsieur le Professeur Jacques TREFOUËL,  
Membre de l'Institut de France,  
Membre de l'Académie de Médecine,  
Directeur de l'Institut Pasteur,

A Monsieur le Docteur AUBLANT,  
Membre de l'Académie de Médecine,  
Secrétaire Général de l'Institut Pasteur,

Je les prie d'agréer l'hommage de  
cette thèse préparée à l'Institut Pas-  
teur où ils m'ont fait l'honneur de  
m'autoriser à travailler pendant  
trois années.



A Monsieur le Docteur Pierre ` NICOLLE,  
Chef de Service à l'Institut Pasteur,

Auquel j'exprime ma reconnaissance  
pour m'avoir accueilli dans son  
Service et pour avoir guidé mes  
recherches.



A Monsieur le Professeur Pierre FREDERICQ,  
Professeur à l'Université de Liège,

A Monsieur le Professeur L. LE MINOR,  
Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine  
de Paris,

A Monsieur le Docteur Yves HAMON,  
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur de  
Paris,

Dont les conseils me furent très  
précieux au cours de mon travail.

Je les assure de mes sentiments  
très reconnaissants.



A Monsieur J. REVIL,

Directeur du Comité d'Accueil aux boursiers  
étrangers du Gouvernement Français.

A Madame A. M. LABROUSSE,

Secrétaire générale du Comité d'Accueil  
aux boursiers étrangers,

J'exprime mes très vifs remerciements  
pour l'aide matérielle et morale qu'ils  
n'ont cessé de me prodiguer pendant  
tout mon séjour en France.



A Georges BRAULT et à Jacqueline BRAULT,

A Anne-Marie du PLESSIS et à  
Madeleine SERRE<sup>1</sup>

En reconnaissance de leur aimable  
collaboration qui a rendu mon  
travail plus facile et plus agréable.



## PLAN du TRAVAIL

|                                                                               | <u>Pages</u> |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <u>INTRODUCTION</u>                                                           |              |
| - Généralités sur l'espèce <u>Escherichia coli</u>                            | 1            |
| - Généralités sur les sérotypes d' <u>E. coli</u> enté-<br>ropathogènes ..... | 4            |
| <br><u>I Ière PARTIE</u>                                                      |              |
| - Généralités sur le sérotype 0119:B14 ....                                   | 7            |
| - Matériel et techniques .....                                                | 9            |
| <br><u>IIème PARTIE</u>                                                       |              |
| - La lysogénie du sérotype 0119:B14 .....                                     | 29           |
| <br><u>IIIème PARTIE</u>                                                      |              |
| - La lysotypie du sérotype 0119:B14 .....                                     | 47           |
| <br><u>IVème PARTIE</u>                                                       |              |
| - Les colicines du sérotype 0119:B14 .....                                    | 51           |
| <br><u>CONCLUSIONS</u> .....                                                  | 71           |
| <br><u>BIBLIOGRAPHIE</u> .....                                                | 75           |



## INTRODUCTION

---

L'objet de cette thèse est l'étude de la lysogénie, de la lysotypie et de la colicinogénie d'une collection de souches du sérotype 0119 : B14 d'Escherichia coli, qui fait partie du groupe des sérotypes reconnus comme agents étiologiques des gastro-entérites épidémiques chez les nourrissons et enfants en bas âge.

Cette collection de souches ayant été étudiée par Mc CALLUM & Coll. (1961) pour les caractères sérologiques et biochimiques, il a paru intéressant de chercher quelles relations pouvaient exister entre ces caractères d'une part et la lysogénie, les images lysotypiques et la colicinogénie, d'autre part.

### I. - GENERALITES SUR L'ESPECE ESCHERICHIA COLI

Ces germes sont Gram négatifs, non sporulés, mobiles ou immobiles et, d'après KAUFFMANN (1951), sérologiquement distincts des autres Entérobactériacées ; ils ne donnent généralement pas la réaction de Voges-Proskauer, mais au contraire souvent celle du rouge de méthyle et ils forment de l'indole. Ils ne décomposent pas l'urée et n'utilisent que rarement le citrate d'ammonium. Ils ne liquéfient pas la gélatine.

Il est classique de dire que les Escherichia coli font fermenter le lactose. Mais cette fermentation, qui est généralement rapide, est parfois très retardée et peut quelquefois même ne pas se produire.

Au moyen des glucides adonitol, dulcitol, inositol, rhamnose, salicine, sucrose et xylose, on peut subdiviser l'espèce en un certain nombre de types biochimiques.

La subdivision sérologique des Escherichia coli a été faite par la détermination des antigènes somatiques (O), capsulaires ou d'enveloppe (K) et flagellaires (H). Les antigènes O sont thermostables et résistent à l'action de l'alcool. Chimiquement, ce sont des polysides.

Sous le nom d'antigènes K, on a réuni trois variétés d'antigènes capsulaires ou d'enveloppe, les antigènes L et B qui sont thermolabiles et ne sont pas contenus par une membrane et les antigènes A qui sont thermostables.

Les antigènes flagellaires ont des propriétés analogues à celles des antigènes H des Salmonella, mais ils sont monophasiques, c'est-à-dire qu'on n'en trouve qu'un seul par bactérie, tandis qu'il est fréquent d'en trouver deux ou davantage chez les Salmonella.

Les antigènes K, quand ils sont présents, empêchent l'agglutination O des bactéries. Le formol est sans action sur l'agglutinabilité des bactéries, leur pouvoir antigénique et leur aptitude à saturer les agglutinines homologues.

Le tableau suivant résume les différences qui existent entre les différentes catégories d'antigènes des Escherichia coli et des Salmonella (d'après KAUFFMANN et KNIPSCHILD) (Tableau I).

TABLEAU I

|                                       |                     | Catégories d'antigènes |     |     |   |   |     |   |
|---------------------------------------|---------------------|------------------------|-----|-----|---|---|-----|---|
| Bactéries                             | Réactions observées | L                      | Vi  | H   | M | 4 | A   | B |
| Vivantes ou tuées<br>par 0,5% Formol  | 1                   | +                      | +   | +   | + | + | +   | + |
|                                       | 2                   | +                      | +   | +   | + | + | +   | + |
|                                       | 3                   | +                      | +   | +   | + | + | +   | + |
| Chauffées<br>1h à 60° C               | 1                   | -                      | -   | +   | + | + | +   | + |
|                                       | 2                   | (-)                    | (+) | +   | + | + | +   | + |
|                                       | 3                   | -                      | -   | +   | + | + | +   | + |
| Chauffées<br>2h1/2 à 100°C            | 1                   | -                      | -   | -   | - | + | +   | - |
|                                       | 2                   | -                      | +   | -   | + | + | +   | + |
|                                       | 3                   | -                      | -   | -   | - | + | (+) | - |
| Traitées par 50%<br>alcool 20h à 37°C | 1                   | -                      | -   | -   | - | + | +   | + |
|                                       | 2                   | (-)                    | +   | (-) | . | + | .   | + |
|                                       | 3                   | +                      | +   | +   | - | + | +   | + |
| Traitées par n<br>ClH 20h à 37°C      | 1                   | -                      | -   | -   | - | + | +   | + |
|                                       | 2                   | -                      | -   | -   | - | + | .   | + |
|                                       | 3                   | -                      | -   | -   | - | + | (+) | - |

L : antigène L ; Vi : antigène Vi ; H : antigène flagellaire ;  
M : antigène muqueux ; 4 : antigène O ; A : antigène A ; B : antigène B ; 1 : agglutinabilité ; 2 : capacité de fixer les agglutinines ; 3 : pouvoir agglutinogène ; + : préservé ; (+) : affaibli ; - : détruit ; (-) : non détruit complètement en suspension dense ; . : non examiné

## Identification des antigènes

Les antigènes O sont recherchés par l'agglutination sur lames, puis en tubes. Mais, en raison des propriétés inhibitrices des antigènes K éventuellement présents, il est préférable de se servir de suspensions préalablement chauffées pendant 1 h. à 100 ° C si l'antigène K est du type L ou du type B et 2 h. à 120° C s'il est du type A et que l'on n'a pas réussi à isoler l des colonies de forme A pure.

Souvent on a constaté des co-agglutinations avec divers sérums anti-O. Dans ce cas, pour parvenir au diagnostic de l'antigène O, il sera nécessaire d'effectuer le titrage en tubes, puis la saturation des sérums standard par des suspensions bactériennes.

Les antigènes K. - Si l'antigène de surface est du type L ou B, la détermination se fera par la même méthode en commençant par ceux qui correspondent à un antigène O donné.

Pour identifier l'antigène L, on absorbe le sérum OL par la bactérie homologue (chauffée) de manière à éliminer les anticorps O. Avec les cultures complètement inagglutinables, on peut utiliser le sérum O'. non absorbé pour déterminer l'antigène L sur lame.

Pour identifier les antigènes B dont l'aptitude à s'unir avec les anticorps correspondants est thermostable, le processus est le même que pour les antigènes L.

Afin d'obtenir les anticorps de forme pure, on absorbe le sérum OB par une suspension chauffée de la bactérie (1h. à 100°C) possédant le même antigène O, mais ayant un antigène L ou B différent.

Les antigènes A sont déterminés de la même manière que les antigènes L et B.

Si la souche est mobile ou si elle l'est peu, après avoir tenté d'exalter sa mobilité par passage sur gélose molle, on identifie l'antigène H au moyen d'une collection des 48 sérums anti-H actuellement admis. Généralement, cette détermination se fait par l'agglutination en tubes en maintenant les tubes au bain-marie à 50°C pendant 2 h.

Depuis BEAVAN (1944), BRAY (1945), GILES et SANGSTER (1948), TAYLOR & Coll. (1949-1952), FERGUSON & Coll. (1952), KAUFFMANN et DUPONT (1950), on sait que de très nombreuses épidémies de gastro-entérites chez les nourrissons sont dues à quelques sérotypes particuliers d'Escherichia Coli.

## II. - GENERALITES sur les GASTRO-ENTERITES INFANTILES à ESCHERICHIA COLI .

Depuis longtemps, on savait qu'il existait dans les services des nourrissons des hôpitaux une maladie épidémique connue des pédiatres sous le nom de "maladie de la crèche" qui frappait presque à coup sûr les enfants de moins d'un an dans la première semaine de leur hospitalisation. Elle se traduisait par des troubles gastro-intestinaux.

En général bénigne, cette maladie de la crèche à laquelle il semblait que tout jeune enfant hospitalisé devait obligatoirement payer son tribut, était beaucoup plus sérieuse lorsqu'il s'agissait de prématurés, d'enfants débiles ou atteints d'autres affections, infectieuses ou non. La mortalité dans ces cas pouvait être parfois élevée.

On reconnaît à ces gastro-entérites des nourrissons plusieurs causes :

1. - Elles peuvent être non infectieuses et résulter d'un déséquilibre alimentaire ou d'un trouble du développement de l'enfant ;
2. - Elles peuvent être la conséquence d'infections non entériques, comme par exemple une otite ou une maladie de la peau ;
3. - Enfin, elles peuvent avoir pour cause une infection microbienne du tractus digestif.

Dans ce dernier cas, on a incriminé plusieurs agents étiologiques : diverses Shigella, diverses Salmonella et surtout divers sérotypes d'Escherichia coli. On a suspecté en outre d'autres germes : Clostridia, Proteus, Pseudomonas, Paracoli, Staphylococcus, Bacillus lactis, Streptococcus faecalis ainsi que des virus.

### Les sérotypes d'Escherichia coli pathogènes pour les nourrissons

La diagnose de certains sérotypes d'E. coli de gastro-entérite infantile fut possible seulement après les études sérologiques de KAUFFMANN et Coll. Ces E. coli de gastro-entérite infantile sont très fréquemment rencontrés dans les collectivités de nourrissons. La transmission d'enfant à enfant se fait par le personnel soignant, les objets qui sont communs à plusieurs enfants, les insectes, l'air et la poussière. La persistance des germes spécifiques dans la poussière des chambres des enfants malades explique la facilité avec laquelle la dissémination se fait dans les services de pédiatrie et les grandes difficultés que l'on rencontre quand on veut arrêter une épidémie.

KAUFFMANN et DUPONT (1950), après avoir étudié les types sérologiques de gastro-entérite infantile ont montré que ces souches appartenaient le plus souvent aux groupes 055 et 0111. Depuis, la liste des sérotypes pathogènes pour les jeunes enfants s'est allongée. Tous possèdent un antigène d'enveloppe du type B. Ce sont les sérotypes :

|            |            |
|------------|------------|
| 0111 : B4  | 0124 : B17 |
| 055 : B5   | 0125 : B15 |
| 026 : B6   | 0126 : B16 |
| 085 : B7   | 0127 : B8  |
| 0119 : B14 | 0128 : B12 |

Les souches de chacun d'entre eux peuvent être mobiles ou immobiles.

Les sérotypes 0111 : B4, 055 : B5 et 026 : B6 ont fait l'objet d'une étude sérologique et biochimique approfondie de la part de Madame Simone LE MINOR (1953). C'est à ce travail que nous renvoyons le lecteur pour une documentation générale sur les E. coli entéropathogènes pour les nourrissons. Nous avons souvent utilisé au cours de notre étude le livre du Professeur LE MINOR : "Le Diagnostic de Laboratoire des Entérobactéries".



## I<sup>ère</sup> PARTIE

### LE SÉROTYPE 0119 : B14

#### I. - GENERALITES SUR E. COLI 0119 : B14

Le type 0119:B14 a été décrit par WRAMBY (1948) sous le nom 034W. Il l'avait isolé de cas de diarrhée chez le veau. Mais SMITH (1953) à Aberdeen fut le premier à signaler l'existence de ce sérotype d'E. coli dans les gastro-entérites infantiles. Il a isolé 21 souches qui possédaient l'antigène H6. Depuis ce temps, E. coli 0119:B14 fut signalé dans plusieurs pays avec des fréquences variées.

CHAMBON (1955), COETZEE et PRETORIUS (1955), BANERJEE & Coll. (1956), QUILLIGAN & Coll. (1957), EWING & Coll. (1957) le trouvèrent une ou plusieurs fois dans les selles de cas sporadiques de gastro-entérite infantile, mais non dans les épidémies.

COOPER & Coll. (1956) étudiant les E. Coli des G.E.I.\* en Ohio trouvèrent 11 fois le sérotype 0119:B14 sur 125 E. coli entéropathogènes provenant de 2169 coprocultures.

GAMBLE et ROWSON (1957) publièrent une étude rapportant les résultats de leurs recherches sur les E. coli de G.E.I. chez des enfants sains de crèches et trouvèrent le sérotype 0119:B14 comme sérotype dominant dans l'une de ces crèches. En Ecosse, au cours d'épidémies de G.E.I., ce sérotype est souvent responsable de formes graves chez les nouveau-nés des maternités et dans les services des nourrissons.

HUGH-JONES et ROSS (1958) étudièrent les épidémies de gastro-entérite dues au sérotype 0119:B14. Dans la diarrhée du veau et chez des porcs, GLANTZ (1958), REES (1959) l'ont rencontré.

---

\* : Lire désormais pour G.E.I. = Gastro-entérite infantile.

SACREZ et Coll. (1958), LEVY (1959) trouvèrent le sérotype 0119:B14 chez 98 enfants présentant une entérite après contact avec des enfants malades.

LUTZ, GRAD et BASS (1959), étudiant la fréquence et la diversité des entérobactéries pathogènes isolées dans le département du Bas-Rhin en 1958, trouvèrent fréquemment les sérotypes 055:B5 et 0119:B14. RANTASALO (1959), étudiant les E. coli de G. E. I. trouva une fois le sérotype 0119:B14 sur 13161 échantillons de selles.

AYOMA (1960) trouva 310 souches d'E. coli pathogènes dont 8 souches de 0119 ; sur 3857 personnes, chez des malades jeunes atteints de diarrhée, la fréquence d'E. coli fut élevée. Il observa en même temps une épidémie de 0111 et 0128 dans l'année 1957 et 1958 respectivement avec la superinfection de 2 à 4 types d'E. coli pathogènes pour un même enfant.

D'après Mc CALLUM & Coll. (1961), ce sérotype 0119:B14 est à l'origine de certaines épidémies graves avec une mortalité élevée en Angleterre et en Ecosse, tandis qu'aux Etats-Unis, il est rencontré seulement dans les cas sporadiques. En France, dans la région de Strasbourg, il est rencontré fréquemment dans des épidémies peu sévères. HIROKI (1961) a étudié la biochimie et la sérologie de 16 souches du sérotype 0119:B14 isolées au Japon.

## II. - MATERIEL et TECHNIQUES

### A. - Nombre de souches étudiées (Tableau II)

Nous avons eu à notre disposition 343 souches d'E. coli du sérotype 0119:B14 dont les caractères antigéniques (antigènes O, B et H) et biochimiques, ainsi que leur sensibilité aux antibiotiques avaient été étudiés par MAY Mc CALLUM, Léon LE MINOR, Simone LE MINOR et Yves CHABBERT (1961). A ces 343 souches il a été ajouté par la suite 50 souches moins complètement étudiées. Notre étude a donc porté sur un total de 393 souches, dont 343 seulement figurent sur le tableau II avec leurs origines géographiques, leurs caractères antigéniques flagellaires et leurs propriétés biochimiques. Ces souches avaient été isolées de cas de gastro-entérites épidémiques ou sporadiques survenus principalement en Allemagne (Berlin : Dr. MARCUS, Dr. HOFFMANN), en France (Strasbourg : Prof. MINCK et Dr. LUTZ;; Mulhouse : Dr. TEMPE ; Lyon : Prof. P. MONNET, Dr. COURTIEU, Mme le Dr. LE TELLIER ; Rouen : Dr. ROBIN ; Toulouse : Mme le Prof. ENJALBERT), en Belgique (Liège : Prof. FREDERICQ), au Vietnam, aux Etats-Unis (Pennsylvanie), en Grande-Bretagne (Aberdeen, Glasgow) et au Mexique (Mexico : Prof. VARELA).

### B. - Variétés antigéniques flagellaires des souches étudiées

Mc CALLUM et Coll. (1961) avaient trouvé 7 antigènes H différents parmi les 343 souches qui nous ont été données. Les fréquences de ces 7 antigènes flagellaires, comparativement avec la provenance géographique des souches, sont rapportées dans le Tableau III. On voit que l'antigène H6 est le plus souvent rencontré et le plus cosmopolite ; viennent ensuite par ordre décroissant, et très loin derrière, les antigènes H 8 (Strasbourg, Liège et Lyon) et H 32 (Strasbourg, Paris et Toulouse), H 4 (Strasbourg, Pennsylvanie, Mexique), H 5 (Strasbourg), H27 (Lyon) et H 40 (Lyon).

Les antigènes H 5 et H 40 n'avaient jamais encore été signalés pour le sérotype 0119:B14. D'autre part, il manque, à notre collection, des souches possédant les antigènes H 9 et H18 qu'EWING a décrits aux Etats-Unis (1956) et EWING & Coll. (1957).

Enfin, signalons que l'antigène H 4 possède une fraction commune avec l'antigène H 48 qui est l'antigène flagellaire de la souche universellement connue E. coli K 12 (ORSKOV & Coll. 1960).

TABLEAU II

| <u>0119:B14:H4</u>        |       | <u>Provenance</u> |    |       |            |
|---------------------------|-------|-------------------|----|-------|------------|
|                           |       |                   | 39 | 978   | Aberdeen   |
| 1                         | 6719  | Pennsylvanie      | 40 | 979   | "          |
| 2                         | 10776 | Mexique           | 41 | 980   | "          |
| 3                         | 20850 | "                 | 42 | 981   | "          |
|                           |       |                   | 43 | 7251  | Strasbourg |
|                           |       |                   | 44 | 7252  | "          |
| <u>0119:B14:H5</u>        |       |                   | 45 | 7253  | "          |
|                           |       |                   | 46 | 7255  | "          |
| 4                         | 15755 | Strasbourg        | 47 | 7612  | "          |
|                           |       |                   | 48 | 7613  | "          |
| <u>0119:B14:H6 (BT 1)</u> |       |                   | 49 | 7614  | "          |
|                           |       |                   | 50 | 7616  | "          |
| 5                         | 7611  | Strasbourg        | 51 | 7618  | "          |
| 6                         | 14199 | "                 | 52 | 7619  | "          |
| 7                         | 15109 | Berlin            | 53 | 7620  | "          |
| 8                         | 15113 | "                 | 54 | 7623  | "          |
| 9                         | 15114 | "                 | 55 | 7624  | "          |
| 10                        | 15115 | "                 | 56 | 7625  | "          |
| 11                        | 15120 | "                 | 57 | 7626  | "          |
| 12                        | 15123 | "                 | 58 | 7627  | "          |
| 13                        | 15125 | "                 | 59 | 7628  | "          |
| 14                        | 15119 | "                 | 60 | 7629  | "          |
| 15                        | 15129 | "                 | 61 | 7630  | "          |
| 16                        | 15133 | "                 | 62 | 7631  | "          |
| 17                        | 15134 | "                 | 63 | 7919  | "          |
| 18                        | 15135 | "                 | 64 | 7920  | "          |
| 19                        | 15136 | "                 | 65 | 7921  | "          |
| 20                        | 15138 | "                 | 66 | 7922  | "          |
| 21                        | 15140 | "                 | 67 | 7923  | "          |
| 22                        | 15141 | "                 | 68 | 7924  | "          |
| 23                        | 15160 | "                 | 69 | 7925  | "          |
| 24                        | 15385 | "                 | 70 | 7926  | "          |
| 25                        | 15399 | "                 | 71 | 7927  | "          |
| 26                        | 17575 | Liège             | 72 | 7928  | "          |
| 27                        | 21006 | Glasgow           | 73 | 7929  | "          |
| 28                        | 21007 | "                 | 74 | 7931  | "          |
| 29                        | 21008 | "                 | 75 | 8979  | "          |
|                           |       |                   | 76 | 8980  | "          |
| <u>0119:B14:H6 (BT 2)</u> |       |                   | 77 | 9495  | Berlin     |
|                           |       |                   | 78 | 9499  | "          |
| 30                        | 966   | Aberdeen          | 79 | 9623  | Liège      |
| 31                        | 967   | "                 | 80 | 9624  | "          |
| 32                        | 968   | "                 | 81 | 9634  | "          |
| 33                        | 969   | "                 | 82 | 9635  | "          |
| 34                        | 970   | "                 | 83 | 11235 | Strasbourg |
| 35                        | 972   | "                 | 84 | 11240 | "          |
| 36                        | 974   | "                 | 85 | 11242 | "          |
| 37                        | 976   | "                 | 86 | 11243 | "          |
| 38                        | 977   | "                 | 87 | 11649 | Berlin     |

0119:B14:H6 (BT 2)

|     |       |            |     |       |            |
|-----|-------|------------|-----|-------|------------|
| 88  | 11650 | Berlin     | 140 | 13478 | Strasbourg |
| 89  | 11651 | "          | 141 | 13482 | "          |
| 90  | 11652 | "          | 142 | 13483 | "          |
| 91  | 11653 | "          | 143 | 13485 | "          |
| 92  | 11654 | "          | 144 | 13486 | "          |
| 93  | 11656 | "          | 145 | 13487 | "          |
| 94  | 11742 | Strasbourg | 146 | 13490 | "          |
| 95  | 11743 | "          | 147 | 13493 | "          |
| 96  | 11745 | "          | 148 | 13557 | "          |
| 97  | 11982 | "          | 149 | 13558 | "          |
| 98  | 11983 | "          | 150 | 15401 | Berlin     |
| 99  | 11985 | "          | 151 | 15402 | "          |
| 100 | 11986 | "          | 152 | 15400 | "          |
| 101 | 11987 | "          | 153 | 15398 | "          |
| 102 | 11989 | "          | 154 | 15397 | "          |
| 103 | 11991 | "          | 155 | 15394 | "          |
| 104 | 11992 | "          | 156 | 15393 | "          |
| 105 | 11993 | "          | 157 | 15392 | "          |
| 106 | 11995 | "          | 158 | 15390 | "          |
| 107 | 11996 | "          | 159 | 15389 | "          |
| 108 | 12263 | Liège      | 160 | 15387 | "          |
| 109 | 12285 | "          | 161 | 15386 | "          |
| 110 | 12266 | "          | 162 | 15384 | "          |
| 111 | 12303 | "          | 163 | 15381 | "          |
| 112 | 12363 | Strasbourg | 164 | 15380 | "          |
| 113 | 12369 | "          | 165 | 15379 | "          |
| 114 | 12670 | "          | 166 | 15378 | "          |
| 115 | 13058 | "          | 167 | 15376 | "          |
| 116 | 13062 | "          | 168 | 15159 | "          |
| 117 | 13063 | "          | 169 | 15157 | "          |
| 118 | 13065 | "          | 170 | 15156 | "          |
| 119 | 13066 | "          | 171 | 15155 | "          |
| 120 | 13068 | "          | 172 | 15154 | "          |
| 121 | 13069 | "          | 173 | 15153 | "          |
| 122 | 13071 | "          | 174 | 15152 | "          |
| 123 | 13073 | "          | 175 | 15151 | "          |
| 124 | 13074 | "          | 176 | 15149 | "          |
| 125 | 13075 | "          | 177 | 15148 | "          |
| 126 | 13076 | "          | 178 | 15147 | "          |
| 127 | 13077 | "          | 179 | 15146 | "          |
| 128 | 13454 | "          | 180 | 15145 | "          |
| 129 | 13455 | "          | 181 | 15144 | "          |
| 130 | 13456 | "          | 182 | 15143 | "          |
| 131 | 13457 | "          | 183 | 15139 | "          |
| 132 | 13459 | "          | 184 | 15137 | "          |
| 133 | 13466 | "          | 185 | 15132 | "          |
| 134 | 13467 | "          | 186 | 15131 | "          |
| 135 | 13468 | "          | 187 | 15121 | "          |
| 136 | 13472 | "          | 188 | 15117 | "          |
| 137 | 13473 | "          | 189 | 15112 | "          |
| 138 | 13475 | "          | 190 | 15111 | "          |
| 139 | 13476 | "          | 191 | 15110 | "          |

0119:B14:H6 (BT 2)

|     |       |            |     |       |            |
|-----|-------|------------|-----|-------|------------|
| 192 | 15107 | Berlin     | 242 | 15763 | Strasbourg |
| 193 | 15106 | "          | 243 | 15762 | "          |
| 194 | 14202 | Strasbourg | 244 | 15761 | "          |
| 195 | 14201 | "          | 245 | 15760 | "          |
| 196 | 14197 | "          | 246 | 15759 | "          |
| 197 | 14196 | "          | 247 | 15756 | "          |
| 198 | 14195 | "          | 248 | 15758 | "          |
| 199 | 14194 | "          | 249 | 15754 | "          |
| 200 | 14193 | "          | 250 | 15753 | "          |
| 201 | 14190 | "          | 251 | 15422 | Berlin     |
| 202 | 14189 | "          | 252 | 15421 | "          |
| 203 | 14188 | "          | 253 | 15420 | "          |
| 204 | 14187 | "          | 254 | 15419 | "          |
| 205 | 14186 | "          | 255 | 15417 | "          |
| 206 | 14185 | "          | 256 | 15418 | "          |
| 207 | 14184 | "          | 257 | 15415 | "          |
| 208 | 14183 | "          | 258 | 15414 | "          |
| 209 | 14182 | "          | 259 | 15413 | "          |
| 210 | 14181 | "          | 260 | 15412 | "          |
| 211 | 14180 | "          | 261 | 15411 | "          |
| 212 | 14178 | "          | 262 | 15410 | "          |
| 213 | 14176 | "          | 263 | 15409 | "          |
| 214 | 14174 | "          | 264 | 15408 | "          |
| 215 | 14173 | "          | 265 | 15407 | "          |
| 216 | 14170 | "          | 266 | 15406 | "          |
| 217 | 14169 | "          | 267 | 15405 | "          |
| 218 | 14168 | "          | 268 | 15403 | "          |
| 219 | 14167 | "          | 269 | 16619 | Mulhouse   |
| 220 | 14166 | "          | 270 | 16618 | "          |
| 221 | 14165 | "          | 271 | 16617 | "          |
| 222 | 14164 | "          | 272 | 16432 | Bordeaux   |
| 223 | 14163 | "          | 273 | 16349 | Mulhouse   |
| 224 | 14162 | "          | 274 | 16260 | Strasbourg |
| 225 | 14160 | "          | 275 | 17131 | Saïgon     |
| 226 | 14159 | "          | 276 | 19476 | "          |
| 227 | 14156 | "          | 277 | 21003 | Lyon       |
| 228 | 14155 | "          | 278 | 20998 | "          |
| 229 | 14153 | "          | 279 | 20556 | Saïgon     |
| 230 | 14152 | "          | 280 | 20545 | "          |
| 231 | 20971 | Lyon       | 281 | 19491 | "          |
| 232 | 15158 | Berlin     | 282 | 19305 | Lyon       |
| 233 | 15377 | "          | 283 | 19302 | "          |
| 234 | 16179 | Strasbourg | 284 | 17926 | Mulhouse   |
| 235 | 16170 | Liège      | 285 | 17925 | "          |
| 236 | 16168 | "          | 286 | 17923 | "          |
| 237 | 16094 | Strasbourg | 287 | 17922 | "          |
| 238 | 16093 | "          | 288 | 17918 | "          |
| 239 | 15767 | "          | 289 | 17910 | "          |
| 240 | 15766 | "          | 290 | 17906 | "          |
| 241 | 15765 | "          | 291 | 17589 | Liège      |
|     |       |            | 292 | 17588 | "          |
|     |       |            | 293 | 17587 | "          |

0119:B14:H6 (BT 2)

|     |       |       |
|-----|-------|-------|
| 294 | 17586 | Liège |
| 295 | 17585 | "     |
| 296 | 17584 | "     |
| 297 | 17583 | "     |
| 298 | 17582 | "     |
| 299 | 17580 | "     |
| 300 | 17578 | "     |
| 301 | 17577 | "     |
| 302 | 17576 | "     |
| 303 | 17574 | "     |
| 304 | 17573 | "     |
| 305 | 17572 | "     |
| 306 | 17571 | "     |
| 307 | 17570 | "     |
| 308 | 17569 | "     |
| 309 | 17489 | Lyon  |
| 310 | 17181 | Rouen |

0119:B14:H6 (BT 3)

|     |       |            |
|-----|-------|------------|
| 311 | 15395 | Berlin     |
| 312 | 15382 | "          |
| 313 | 16177 | Strasbourg |
| 314 | 15388 | "          |

0119:B14:H6 (BT 4)

|     |       |            |
|-----|-------|------------|
| 315 | 14191 | Strasbourg |
| 316 | 15142 | Berlin     |
| 317 | 15177 | "          |

0119:B14:H6 (BT 5)

|     |       |        |
|-----|-------|--------|
| 318 | 15130 | Berlin |
| 319 | 15124 | "      |

0119:B14:H6 (BT 6)

|     |       |        |
|-----|-------|--------|
| 320 | 15118 | Berlin |
|-----|-------|--------|

0119:B14:H6 (BT 7)

|     |       |        |
|-----|-------|--------|
| 321 | 17133 | Saïgon |
| 322 | 20553 | "      |
| 323 | 20549 | "      |
| 324 | 19481 | "      |
| 325 | 20547 | "      |
| 326 | 20562 | "      |
| 327 | 20561 | "      |

0119:B14:H6 (BT 8)

|     |       |        |
|-----|-------|--------|
| 328 | 15404 | Berlin |
|-----|-------|--------|

0119:B14:H8 (BT 1.2.3)

|     |       |            |
|-----|-------|------------|
| 329 | 14001 | Strasbourg |
| 330 | 16167 | Liège      |
| 331 | 16892 | Strasbourg |
| 332 | 16114 | Lyon       |

0119:B14:H27

|     |       |      |
|-----|-------|------|
| 333 | 17927 | Lyon |
|-----|-------|------|

0119:B14:H32 (BT 1.2.3)

|     |       |            |
|-----|-------|------------|
| 334 | 16443 | Toulouse   |
| 335 | 18807 | "          |
| 336 | 16180 | Strasbourg |
| 337 | 20565 | Paris      |

0119:B14:H40

|     |       |      |
|-----|-------|------|
| 338 | 16115 | Lyon |
|-----|-------|------|

0119:B14:NM (BT 1.2)

|     |       |            |
|-----|-------|------------|
| 339 | 15797 | Lyon       |
| 340 | 15889 | "          |
| 341 | 16176 | Strasbourg |
| 342 | 15757 | "          |
| 343 | 15764 | "          |

Tableau III

Différents types d'antigène flagellaire et origine des souches

| Origine    | H4 | H5 | H6  | H8 | H27 | H32 | H40 | Non mobiles |
|------------|----|----|-----|----|-----|-----|-----|-------------|
| Berlin     |    |    | 97  |    |     |     |     |             |
| Strasbourg | 1  | 1  | 148 | 2  |     | 1   |     | 3           |
| Liège      |    |    | 28  | 1  |     |     |     |             |
| Saïgon     |    |    | 12  |    |     |     |     |             |
| Lyon       |    |    | 6   | 1  | 1   |     | 1   | 2           |
| Mulhouse   |    |    | 11  |    |     |     |     |             |
| Paris      |    |    |     |    |     | 1   |     |             |
| Toulouse   |    |    |     |    |     | 2   |     |             |
| Aberdeen   |    |    | 13  |    |     |     |     |             |
| Glasgow    |    |    | 2   |    |     |     |     |             |
| Rouen      |    |    | 1   |    |     |     |     |             |
| Bordeaux   | 1  |    |     |    |     |     |     |             |
| Mexique    | 1  |    |     |    |     |     |     |             |
| Total      | 3  | 1  | 319 | 4  | 1   | 4   | 1   | 5           |

d'après Mac Callum, L. et S. Le Minor et Y. Chabert

### C. - Caractères biochimiques des divers types flagellaires du sérotype 0119 : B14

Mc CALLUM & Coll. (1961) ont reconnu 8 chimiotypes parmi les souches du sérotype H 6. On en trouvera les caractères dans le Tableau IV.

#### a) Le sérotype H 6

Comme on peut le voir sur ce tableau, c'est le sérotype flagellaire dominant notre collection. La grande majorité des souches de ce sérotype (279 de provenances variées) appartenaient au chimiotype 2, 24 au chimiotype 1, 7 au chimiotype 7 (ces dernières provenaient toutes de Saïgon), 4 au chimiotype 3, 3 au chimiotype 4, 2 au chimiotype 5 et 1 à chacun des chimiotypes 6 et 8.

#### b) Le sérotype H 4

Ce sérotype, qui compte 3 souches (Mexique : 2 souches, et Pennsylvanie), ne comprend qu'un seul chimiotype qui fait fermenter tous les sucres sauf l'adonitol, l'inositol et la salicine.

#### c) Le sérotype H 5

Il n'est représenté que par une seule souche (Strasbourg) qui a les mêmes caractères biochimiques que le chimiotype 1 du sérotype H 6.

#### d) Le sérotype H 8

Il comprend 4 souches (Strasbourg, Liège et Lyon) qui ont été réparties en 3 chimiotypes dont les 2 premiers ne diffèrent que par la réaction du rhamnose (positive pour le premier, négative pour le 2ème). Le 3ème est identique au chimiotype 1 du sérotype H 6.

#### e) Le sérotype H 27

Il n'a qu'une seule souche (Lyon) dont le chimiotype est caractérisé par l'aptitude à faire fermenter tous les sucres sauf le sorbose, le dulcitol, le saccharose et l'inositol.

#### f) Le sérotype H 32

Il compte 4 souches dont 2 viennent de Toulouse et se distinguent par des propriétés biochimiques particulières, tandis que les 2 autres (Paris et Strasbourg) sont biochimiquement analogues aux chimiotypes 2 et 3 du sérotype H 6.

g) Le sérotype H 40

Il n'est représenté que par 1 souche dont les caractères biochimiques sont semblables à ceux du chimiotype 1 du sérotype H 6 et à ceux du sérotype H 5.

h) Souches immobiles

Ce groupe compte 5 souches (Strasbourg, Lyon) qu'on peut répartir en 2 chimiotypes, l'un qui comprend 4 souches, est différent de tous les chimiotypes des autres sérotypes et l'autre est identique au chimiotype 1 du sérotype H 6.

Tableau IV

Caractères biochimiques des sérotypes H6

|                      | 1  | 2   | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|----------------------|----|-----|---|---|---|---|---|---|
| Arabinose            | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Adonitol             | -  | -   | - | - | - | - | - | - |
| Rhamnose             | +  | -   | - | - | + | - | - | - |
| Glucose              | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Sorbose              | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Sorbitol             | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Dulcitol             | +  | +   | + | - | + | + | + | - |
| Mannitol             | +  | +   | - | + | + | + | + | + |
| Xylose               | +  | +   | + | + | + | + | - | + |
| Lactose              | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Maltose              | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Saccharose           | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Tréhalose            | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Inositol             | -  | -   | - | - | - | - | - | - |
| Salicine             | +  | +   | + | + | x | - | - | - |
| D-tartrate           | -  | -   | - | - | - | - | - | - |
| Citrate              | -  | -   | - | - | - | - | - | - |
| H <sub>2</sub> S     | -  | -   | - | - | - | - | - | - |
| MR                   | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| VP                   | -  | -   | - | - | - | - | - | - |
| Uréase               | -  | -   | - | - | - | - | - | - |
| Indole               | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| Lysine-décarboxylase | +  | +   | + | + | + | + | + | + |
| P.P.                 | -  | -   | - | - | - | - | - | - |
| Nombre de souches    | 24 | 279 | 4 | 3 | 2 | 1 | 7 | 1 |

## D. - Sensibilité aux antibiotiques

Il n'a pas été possible d'établir un rapport entre les sérotypes et les chimiotypes d'une part et la sensibilité aux antibiotiques d'autre part. Mais d'une façon générale, les souches provenant d'épidémies ont montré une plus grande résistance aux antibiotiques que les souches isolées dans des cas sporadiques.

## E. - Conservation des souches du sérotype 0119:B14

Les souches ont été repiquées dès l'isolement en culots de gélose au bouillon de viande et toutes les expériences ont été effectuées en partant de ces cultures en culot. Nous n'avons pas observé de changements appréciables dans les caractères des germes au cours d'une observation portant sur plus de 8 mois.

## F. - Bactériophages pour la lysotypie

### 1. - Phages de lysogénie des souches du sérotype 0119:B14.

Malgré leur grande diversité, les phages isolés des souches lysogènes du sérotype 0119:B14 ne sont qu'exceptionnellement actifs sur les souches du même sérotype. Seules 7 souches (15766, 14001, 16167, 18807, 15764, 968, 15379) se sont montrées sensibles à certains phages de lysogénie, en particulier aux phages 16114/KS, 15764/KS, 16115/KR 15755/KS, 15106/Y6B, 16180/KS, 16114/KR (voir p. 30, le tableau VIII), consacré au spectre d'activité des 7 souches aux phages énumérés ci-dessus).

Du fait du peu de sensibilité des souches du sérotype 0119:B14 aux phages de lysogénie du même sérotype, nous avons dû renoncer à mettre sur pied une lysotypie rationnelle, c'est-à-dire fondée sur l'emploi des phages de lysogénie, bien que les états lysogènes dans le sérotype 0119:B14 soient apparus très divers.

### 2. - Isolement des phages à partir de l'eau d'égoût

Les phages de la lysotypie du sérotype 0119:B14 proviennent donc tous de l'eau d'égoût.

#### a) Technique de la recherche des phages à partir de l'eau d'égoût.

Des échantillons d'eau provenant de l'égoût de Clichy nous ont été fournis chaque semaine depuis le mois de Septem-

bre 1961 par le Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris \*.

On effectue un mélange à parties égales de bouillon et d'eau d'égout décantée. Ce mélange est filtré sur bougie Chamberland L3. Le filtrat est éprouvé sur des plaques de gélose ensemencées avec une culture jeune de souches appartenant aux divers sérotypes flagellaires du groupe 0119:B14. Pour cela, on dépose XX gouttes d'un filtrat et XX gouttes de la culture (environ 50 à 100 millions de bactéries au total) à la surface de la gélose. On incline la boîte dans tous les sens, pour répandre le mélange sur toute l'étendue de la boîte, puis on ôte l'excès du liquide par aspiration au moyen d'une pipette reliée à une fiole de Kitasato dans laquelle on fait le vide en la mettant en connexion avec une trompe à eau.

Après une incubation de 16 h. environ à 37° C, on examine les plages qui se sont formées dans le gazon bactérien. On note leurs dimensions et leurs principales caractéristiques.

#### b) Isolement des phages.

On repère une plage de chaque aspect en prenant soin qu'elle soit bien isolée des autres. On découpe au scalpel flambé un cube de gélose comprenant la plage et une mince marge de culture. La présence des bactéries est en effet indispensable pour la régénération (la multiplication) du phage. Le cube de gélose ainsi centré par la plage est transporté dans une fiole contenant 30 cm<sup>3</sup> de bouillon. On incube le tout à 37° C pendant un temps qui peut varier de 3 à 8 h. On filtre le liquide sur bougie L3.

#### c) Titrage des phages

Le procédé le plus rapide pour le titrage des bactériophages est celui qui est connu sous le nom de "titrage à la goutte". On prépare une série décimale de dilutions du phage, de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-8</sup> par exemple. Onensemence d'autre part une plaque de gélose, soit en étalant sur la surface du milieu solide, au moyen d'une pipette de verre coudée trois fois à angle droit et préalablement flambée, quelques gouttes d'une culture jeune (500 millions de germes par cm<sup>3</sup>) de la souche bactérienne sensible, soit en inondant la gélose avec 2 ou 3 cm<sup>3</sup> de la culture du germe sensible au bouillon, en balançant la boîte pour mouiller toute la surface

---

\* : Nous adressons au Dr. COIN, Directeur de ce Laboratoire, nos sincères remerciements.

puis en aspirant l'excès du liquide comme il a été dit plus haut. Lorsque la couche liquide est complètement absorbée par la gélose, ce qui ne demande qu'une heure au maximum à l'étuve à  $37^{\circ}\text{C}$ , on dépose des gouttes du phage non dilué et de chacune des dilutions dans les cases du quadrillage dessiné au préalable sur la face inférieure de la boîte de gélose. Après incubation à  $37^{\circ}\text{C}$ , on compte le nombre des plages dans l'aire des gouttes des dilutions qui présente le plus grand nombre de plages numérisées.

#### d) Obtention de phages de lignée pure

L'eau d'égout contient une très grande variété de phages souvent actifs sur une même souche sensible. Les cultures lysogènes d'autre part sont parfois capables de libérer plusieurs phages en même temps. Il convient donc lorsqu'on isole des phages de l'eau d'égout ou des filtrats des souches lysogènes de s'efforcer de séparer les phages différents. Ce résultat peut être obtenu en prélevant plusieurs fois de suite une plage isolée des autres plages dans la culture sensible. On y parviendra en opérant un titrage sur gélose et en choisissant de préférence une dilution qui ne donne qu'une seule plage ou un très petit nombre de plages bien éloignées les unes des autres. La plage ou les plages seront prélevées comme il a été indiqué plus haut.

#### e) Préparation des phages à titre élevé.

Nous avons cherché à obtenir le meilleur titre possible pour les phages que nous avons isolés et qui étaient destinés à la lysotypie du sérotype 0119:B14. Le titre bactériophagique dépend, on le sait, en grande partie, de la vitesse de la croissance bactérienne lors de la multiplication des phages. Si la croissance est trop rapide ou au contraire si elle est trop lente, le titre bactériophagique restera faible. On règlera notamment la vitesse de croissance le cas échéant en faisant varier la température d'incubation, le rythme de l'agitation et l'intensité de l'aération du milieu de culture. Un bon procédé pour obtenir des titres assez élevés consiste à incuber la culture additionnée du phage pendant quelques heures à  $37^{\circ}\text{C}$ , puis à laisser la lyse se produire à la température du laboratoire ou même au réfrigérateur à  $+4^{\circ}\text{C}$ .

#### f) Séparation des phages d'avec les bactéries.

Même si une lyse importante s'est produite en milieu liquide, il conviendra de séparer les bactériophages des bactéries survivantes. Plusieurs procédés ont été préconisés à cet effet : la filtration des cultures lysées sur bou-

gie Chamberland L3, qui ne laisse passer que les phages, le chauffage à 65° C pendant 30 minutes et le chloroforme, qui tuent les bactéries. Dans les deux derniers cas, on devra centrifuger les cultures pour les débarrasser des corps bactériens. Chacun de ces procédés a ses avantages et ses inconvénients. Nous avons utilisé généralement la filtration pour la préparation des phages destinés à la lysotypie et le chloroforme pour la mise en évidence de la lysogénie dans les cultures lysogènes.

De nombreux phages ont été obtenus à partir de l'eau d'égout. Après élimination de ceux qui faisaient double emploi ou qui étaient inutiles, le nombre des phages employés pour la lysotypie a été réduit à 8. On trouvera aux Tableaux V et VI leur liste et leurs dilutions d'emploi.

### 3. - Mise en évidence de la propriété lysogène des cultures du sérotype 0119:B14.

#### a) Choix d'une souche indicatrice

De toutes les souches généralement utilisées dans le Service des Bactériophages de l'Institut Pasteur pour la recherche de la lysogénie des Entéro-bacteriaceae, notamment Shigella paradysenteriae Y6R, E. coli Bordet, E. coli 36, E. coli K, c'est cette dernière qui a donné les meilleurs résultats. C'est donc, sauf exceptions mentionnées, cette souche que nous avons employée.

#### b) Techniques pour la mise en évidence de la propriété lysogène: Filtration, chauffage, chloroforme.

Comme on le verra dans la IIème Partie, la lysogénie est très fréquente dans le groupe 0119:B14. Dans l'immense majorité des cas, cette propriété est facilement démontrée par les techniques classiques : dépôt d'une goutte de culture en bouillon de la souche supposée lysogène sur une gélose ensemencée avec le germe sensible, dépôt d'une goutte de la même culture filtrée sur bougie, ou tuée par chauffage à 65° C (30 minutes), ou tuée par le chloroforme. C'est ce dernier procédé que nous avons généralement utilisé.

#### c) Cultures mixtes

Cependant, lorsque ce premier essai est resté négatif, nous avons effectué la culture mixte en bouillon de la souche supposée lysogène (ensemencement :  $10^4$  bactéries environ par cm<sup>3</sup>) avec la souche sensible (ensemencement :  $10^4$  bactéries environ par cm<sup>3</sup>). Cette culture mixte est incubée à 37° C pendant 4 à 5 h. Elle est ensuite filtrée sur bougie Chamberland et des gouttes du filtrat sont déposées

Tableau V

Phages pour la lysotypie du sérotype 0119:B14  
provenant de l'eau d'égout

| N° des phages | Date de l'isolement | Souche sensible | Morphologie des                                                        |
|---------------|---------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------|
| 1             | 30 nov. 1961        | 6719            | petites, nettes avec auréoles                                          |
| 2             | 16 nov. 1961        | 14001           | petites à centre opaque avec grande auréole                            |
| 3             | 30 nov. 1961        | 15146           | grande à centre net, culture secondaire périphérique                   |
| 4             | 30 nov. 1961        | 15148           | moyenne, nette                                                         |
| 5             | 12 déc. 1961        | 15149           | moyenne, nette, auréole étroite                                        |
| 6             | 13 déc. 1961        | 15764           | grande, voilée, culture secondaire à irisation rouge                   |
| 7             | 30 nov. 1961        | 15797           | moyenne à centre opaque, quelques colonies secondaires à la périphérie |
| 8             | 12 déc. 1961        | 16167           | petite, voilée                                                         |
| 9             | 5 déc. 1961         | 16432           | grande, irisée                                                         |
| 10            | 12 déc. 1961        | 16443           | 2 sortes de plages : moyenne et petite nettes                          |
| 11            | 30 nov. 1961        | 17927           | moyenne nette                                                          |
| 12            | 30 nov. 1961        | 20565           | petite nette                                                           |
| 13            | 12 déc. 1961        | 20850           | très grande, large auréole                                             |
| 14            | 30 nov. 1961        | 20971           | 2 sortes de plages : moyenne et petite légèrement voilées              |
| 15            | 5 déc. 1961         | 20998           | 2 sortes de plages : moyenne et petite nettes                          |

N.B. - Seuls les 8 premiers phages ont été reconnus utiles pour la lysotypie

Tableau VI

Dilutions d'épreuve des plages pour la routine de la lysotypie

| N° des phages | N° des souches utilisées pour leur régénération | Antigènes flagellaire des souches | Réaction de la lysine décarboxylase (LDC) | Concentration d'épreuve des phages pour la routine de la lysotypie |
|---------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1             | 6719                                            | H4                                | +                                         | 10 <sup>-4</sup>                                                   |
| 2             | 14001                                           | H8                                | -                                         | 10 <sup>-3</sup>                                                   |
| 3             | 15146                                           | H6                                | +                                         | 10 <sup>-2</sup>                                                   |
| 4             | 15148                                           | H6                                | +                                         | 10 <sup>-3</sup>                                                   |
| 5             | 15149                                           | H6                                | -                                         | 10 <sup>-2</sup>                                                   |
| 6             | 15764                                           | H-                                | +                                         | 10 <sup>-2</sup>                                                   |
| 7             | 15797                                           | h-                                | +                                         | 10 <sup>-3</sup>                                                   |
| 8             | 16167                                           | H8                                | -                                         | 10 <sup>-2</sup>                                                   |

sur une gélose ensemencée avec le germe sensible. La formation de plages indique que la souche étudiée est lysogène. Cette technique révèle la lysogénie dans certains cas où l'épreuve avec les filtrats ou le surnageant de cultures tuées par chauffage ou par le chloroforme n'avait rien donné.

d) Induction de la propriété lysogène par l'irradiation ultraviolette.

Pour les rares cultures du sérotype 0119:B14 qui sont restées négatives, on a tenté enfin une dernière épreuve avant de les considérer, au moins provisoirement, comme non lysogènes.

LWOFF, SIMINOVITCH et KJELDGAARD (1950) ont montré que si l'on soumettait des cultures lysogènes à des doses convenables de rayonnement ultra-violet, les cultures lysogènes libéraient souvent, mais non toujours, une quantité beaucoup plus importante de corpuscules bactériophages actifs. C'est le phénomène de l'induction (induction

d'une souche lysogène à produire une plus grande quantité de corpuscules bactériophages). Il s'accompagne parfois en outre de la lyse totale ou subtotale de la culture lysogène comme on l'observe au cours du cycle lytique, lorsqu'on introduit dans une culture sensible, en phase de croissance, une certaine quantité de bactériophage. Autrement dit, de complètement ou presque complètement résistante qu'elle était avant l'irradiation ultraviolette, la culture, après traitement par les U.V. est devenue sensible à son propre phage. Elle est lysée et cette lyse s'accompagne d'une libération massive des corpuscules actifs.

Dans la pratique, on se sert, pour l'irradiation ultraviolette d'une lampe à vapeur de mercure à haute tension et basse pression (lampe Gallois), développant une énergie de 4.000 ergs par mm<sup>2</sup> et par minute, à 50 cm. de distance et produisant des rayons dont la majorité sont situés au voisinage de la longueur d'onde de 2.537 Å. L'irradiation est effectuée en exposant au rayonnement U.V. les cultures pendant leur phase exponentielle de croissance en milieu liquide dans des boîtes de Petri dont le couvercle a été ôté et qui sont soumises à un balancement rapide. Pour les 0119:B14, la durée optimale de l'exposition aux rayons U.V. est comprise entre 1 minute et 1 minute et demie comme le montre l'expérience suivante :

Tableau VII

Recherche de la durée optimale d'irradiation ultra-violette pour l'induction d'une souche lysogène du sérotype 0119 : B14 n'ayant pas libéré de phage dans les conditions normales de culture.

Souche 15755 - Culture contenant 10 bactéries par cm<sup>3</sup> au moment de l'irradiation, filtrée sur bougie L3, 3h. après l'irradiation.

| Temps d'irradiation<br>en secondes | Titre du bactériophage<br>par cm <sup>3</sup> | Observations                                                                           |
|------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 0                                  | 0                                             | 1° - Les phages deviennent de plus en plus petites.                                    |
| 15                                 | 1,6.10 <sup>5</sup>                           |                                                                                        |
| 30                                 | 4,4.10 <sup>5</sup>                           |                                                                                        |
| 60                                 | 4,4.10 <sup>6</sup>                           |                                                                                        |
| 90                                 | 5.10 <sup>6</sup>                             | 2° - Le nombre des phages augmente jusqu'à 90 secondes d'irradiation, puis il diminue. |
| 120                                | 1,6.10 <sup>6</sup>                           |                                                                                        |
| 180                                | 2,8.10 <sup>5</sup>                           |                                                                                        |
| 240                                | 2,8.10 <sup>5</sup>                           |                                                                                        |

La quantité des corpuscules bactériophages libérés par une même souche bactérienne lysogène varie considérablement suivant les conditions dans lesquelles on opère. LWOFF' avait constaté en 1950 que Bacillus megaterium lysogène libérait du phage en milieu levuré, tandis qu'il n'en libérait pas en milieu synthétique. D'une manière générale, on peut affirmer que, dans les mêmes conditions expérimentales, le nombre des corpuscules trouvés libres dans les filtrats est constant pour une souche lysogène donnée.

#### 4. - La lysotypie des souches du sérotype 0119:B14.

On sait en quoi consiste la lysotypie d'une espèce bactérienne (en anglais : phage typing) : au moyen d'un jeu de bactériophages convenablement choisis et dilués, il est souvent possible de déceler des différences dans les images des réactions des souches de cette espèce ; toutes les souches provenant d'un même malade ou d'un même foyer épidémique fournissent en principe la même image. Elles appartiennent donc à un même lysotype. On voit tout de suite l'intérêt que présente la lysotypie en épidémiologie. Elle permet d'établir la filiation de la contagion et de prendre, en toute connaissance de cause, les mesures appropriées à chaque cas, avec les meilleures chances de succès pour enrayer l'extension d'une épidémie et même pour parvenir à l'éradication complète de la contagion.

##### a) Dilutions des bactériophages pour la lysotypie.

Chaque phage doit être dilué à la dilution critique ou dilution limite. C'est la plus grande dilution qui permet encore de produire la lyse confluente sur la souche sur laquelle ce phage a été préparé. Par lyse confluente, on entend un effet lytique dû à la confluence de très nombreuses plages entre lesquelles il ne reste rien de la culture primaire. Dans le cas des E. coli du sérotype 0119:B14, chacun des 8 phages utilisés pour la lysotypie a été préparé sur une souche différente de 0119:B14. Tous ces phages, comme nous l'avons vu plus haut, proviennent de l'eau d'égout. Leurs dilutions sont indiquées sur le Tableau VI.

##### b) Technique de la lysotypie

Cette technique est des plus simples. Les souches à étudier sont ensemencées en eau peptonée la veille de l'expérience. Le jour même, onensemencera chaque boîte de gélose en répandant sur sa surface 3 cm<sup>3</sup> environ d'une culture de 24 h. en eau peptonée diluée de manière à contenir en moyenne 50 à 100 millions de bactéries par cm<sup>3</sup> de la souche à lysotyper (ensemencement dit "par inondation"). Toute la surface de la gélose ayant été mouillée par balancement

de la boîte dans tous les sens, on en ôte l'excès par aspiration mécanique. Les boîtes de gélose ensemencées sont portées à l'étuve, retournées et placées en porte-à-faux sur leur couvercle pendant 10 minutes, pour que toute trace de liquide disparaisse. Ensuite, on dépose une goutte de chacun des 8 phages de la lysotypie dans la case, qui lui est réservée, du quadrillage préalablement dessiné au dos de la boîte. Les boîtes sont alors laissées 18h, à l'étuve à 37 ° C.

Lecture des résultats. - Les réactions aux bactériophages des diverses cultures sont rigoureusement notées suivant un répertoire de signes conventionnels analogues à celui-ci :

LC = lyse conflente. La gélose est complètement à nu sur toute la surface occupée par la goutte du phage.

LCV = lyse conflente, voilée totalement ou partiellement par une couche continue de culture secondaire.

<LC = lyse presque conflente.

+++ , ++ , + = nombres décroissants de plages.

+ g , + m , + p , + tp = grandes plages, plages moyennes, petites plages, très petites plages.

Une culture donnée montrera une certaine "image de réactions aux bactériophages". Les autres cultures pourront présenter soit la même image : elles seront alors dites du même lysotype, soit des images différentes : on les dira de lysotypes différents.

## 5. - Sérologie des bactériophages

On connaît l'importance de la réaction de neutralisation des phages par les sérums anti-phages pour l'identification et la classification des bactériophages. Les phages préparés en eau peptonée diluée (eau peptonée du laboratoire diluée à 1/2 ou 1/5) sont injectés à des lapins par la voie péritonéale à la dose de 50 cm<sup>3</sup>. On répète les injections 2 ou 3 fois à une semaine d'intervalle. Ces injections successives sont généralement bien tolérées. 15 jours ou 3 semaines après la dernière injection, les animaux subissent une saignée d'épreuve à la veine marginale de l'oreille ou par ponction cardiaque. Si le sérum de cette prise de sang présente des propriétés neutralisantes suffisantes à l'égard du phage injecté, les lapins sont saignés à blanc.

Dans le cas contraire, ils sont soumis à une nouvelle série d'injections de bactériophage.

Certains bactériophages sont de bons antigènes. On obtient alors facilement des sérums actifs aux dilutions de 1/2.000, 1/5.000, 1/10.000 et même au-delà. D'autres, au contraire, ont des propriétés antigéniques très faibles (cf. Marc ADAMS 1959, pour les phages T1 et T5). On arrivera péniblement à obtenir des sérums actifs à 1/100, 1/50 et même quelquefois seulement à 1/20. Dans ce cas, il est à craindre que la réaction de neutralisation soit très peu spécifique.

Pour les phages de lysogénie du sérotype 0119:B14, nous avons obtenu quelques sérums excellents, d'autres moins bons et aussi parfois de très mauvais sérums. Pour ces derniers, nous avons tenté d'améliorer la réponse en anticorps des lapins en multipliant les injections de bactériophage, en variant les voies d'administration, en utilisant enfin diverses substances adjuvantes ou prétendues telles (en particulier l'adjuvant de Freund, l'acide ascorbique, l'acide pantothenique, l'acide nicotinique). Les résultats ont été décevants.

6. - Obtention de mutants résistants aux phages de lysogénie du sérotype 0119:B14 à partir des souches sensibles E. Coli K, E. coli B et Sh. paradysenteriae Y6R, et expériences de lysogénisation.

Pour différencier entre eux les phages de lysogénie des souches du sérotype 0119:B14, nous avons effectué l'épreuve de la résistance croisée des cultures secondaires apparues à la suite de l'action de ces phages.

Pour obtenir des mutants résistants, il suffit généralement de prélever et de repiquer sur gélose inclinée la culture secondaire qui se forme dans l'aire d'une goutte de phage de lysogénie sur une plaque de géloseensemencée avec la souche E. coli K qui, nous l'avons vu, est sensible à presque tous les phages de lysogénie des souches du sérotype 0119:B14. Cette culture se montrera spécifiquement résistante au phage qui a déterminé son apparition.

Cependant, dans quelques cas, la culture secondaire garde une partie de sa sensibilité au phage essayé, parce qu'elle contient encore un assez grand nombre de bactéries qui n'ont pas été touchées par le phage. On effectuera donc une séparation des colonies sur plaques de gélose. On prélèvera et on repiquera sur gélose inclinée un certain nombre de colonies en s'aidant, s'il y a lieu pour le choix, de leurs différences d'irisation en transillumination oblique.

Sur les subcultures de ces colonies isolées, on éprouvera toute une série de phages de lysogénie. Certaines d'entre elles se montreront résistantes au phage qui a déterminé l'apparition de la culture secondaire et peut-être à d'autres phages que l'on pourra considérer alors comme apparentés au premier.

Certaines de ces subcultures résistantes sont en même temps devenues lysogènes. Pour le prouver, on opérera selon le protocole suivant : on ensemence un tube de bouillon avec la culture résistante ( $10^4$  bactéries par  $\text{cm}^3$  de milieu). On place le tube dans un bain-marie à agitation à  $37^\circ\text{C}$ . On filtre sur bougie Chamberland L3 vers la 4ème heure. Le filtrat est essayé sur la souche E. coli K. S'il se produit des plages ou la lyse confluyente, on reprendra la culture lysogène, on la mélangera à des dilutions à 1/10 et à 1/100 du sérum neutralisant spécifique du phage employé. On laissera les bactéries et ce sérum en contact pendant 18 h. On centrifugera, on lavera les bactéries 2 ou 3 fois avec du bouillon ou de l'eau peptonée, on effectuera plusieurs repiquages sur gélose. Enfin, on éprouvera ce filtrat d'une subculture en bouillon sur une gélose ensemencée avec E. coli K. S'il se forme la lyse confluyente ou même simplement des plages, on en pourra conclure que la souche E. coli K traitée par le phage est vraiment lysogène et non simplement contaminée par un phage.

## 7. - Recherche de la propriété colicinogène.

Les souches d'E. coli du sérotype 0119:B14 sont souvent colicinogènes. La mise en évidence de cette propriété est très simple, à condition d'avoir à sa disposition une bonne souche révélatrice.

### a) Choix de la souche révélatrice de la propriété colicinogène

De toutes les souches que nous avons employées pour la recherche de la propriété colicinogène : E. coli Bordet 2, E. coli Lisbonne, E. coli K, E. coli 36 et E. coli K 12 S, c'est cette dernière qui a montré la plus grande sensibilité.

### b) Techniques pour la mise en évidence de la propriété colicinogène.

Diverses techniques ont été décrites par FREDERICQ (1948). Elles sont classiques : technique des cultures croisées sur gélose, technique des gouttes de la culture sensible en chevauchement sur la culture colicinogène, enfin technique de la double couche, cette dernière étant réservée à la recherche de la propriété colicinogène des colonies bactériennes.

Les deux premières techniques présentent quelques inconvénients mineurs, notamment le risque que la culture colicinogène, en principe résistante à la colicine, vienne se mélanger avec la culture sensible, ce qui tend à diminuer, voire à supprimer la zone d'inhibition due à la colicine. Pour obvier à cette éventualité, FREDERICQ a proposé de n'ajouter la culture sensible que 24 ou 48 h. après l'ensemencement de la culture colicinogène et après avoir tué cette dernière par les vapeurs de chloroforme, ce qui présente en outre l'avantage de laisser le temps à la colicine de diffuser plus loin dans la gélose. Cependant, certaines cultures sont sensibles au chloroforme, notamment les colicines du groupe E et nous attribuons à cette sensibilité certains de nos échecs au cours de nos recherches sur les colicines.

#### Technique personnelle de la recherche du pouvoir colicinogène.

Nous avons donc mis au point une technique personnelle également très simple, qui permet d'éviter les deux inconvénients signalés, c'est-à-dire le risque de contamination de la culture sensible par la culture colicinogène et celui d'une inactivation de la colicine par les vapeurs de chloroforme.

On effectue des ensemencements de plusieurs souches supposées colicinogènes (8 par boîte de gélose de 9 cm de diamètre) en piqûre au moyen d'un fil de platine droit. Les boîtes ainsi ensemencées sont laissées 24 h. ou 48 h. à l'étuve à 37°C. Les cultures se développent dans l'épaisseur de la gélose le long du trait d'ensemencement et elles débordent un peu à la surface sous forme d'un disque de quelques millimètre de diamètre. Au moyen d'un tube métallique relié par un tuyau de caoutchouc à une fiole de Kitasato dans laquelle on fait le vide, on extirpe les cultures. Puis on ensemence toute la surface de la gélose, ainsi creusée de trous, avec la culture sensible qu'on étale au moyen d'un étaleur de verre préalablement flambé. On peut également déposer, de part et d'autre de chaque trou, une goutte de la culture sensible (E. coli K 12 S) et d'une autre culture dont nous désirons connaître la sensibilité à la colicine (Fig. 18). Les résultats obtenus par cette technique se sont montrés plus nets et plus souvent positifs que ceux qui furent acquis par les techniques classiques. Nous proposons de nommer cette technique personnelle : technique à l'emporte-pièce (Fig. 18 & 19).

Les autres techniques concernant l'étude des colicines seront mentionnées au chapitre "Colicines du sérotype 0119:B14".

## IIème PARTIE

### LA LYSOGENIE du SÉROTYPE 0119:B14

#### I. - ETUDE de la LYSOGENIE PARMI les SOUCHES du SÉROTYPE 0119 : B14.

##### A. - Détermination des conditions optimales pour la recherche de la lysogénie.

###### 1. - Milieu de culture

Le bouillon de digestion tryptique, additionné ou non de peptone, s'est montré nettement supérieur à l'eau peptonée.

###### 2. - Choix de la souche sensible

Les phages de lysogénie des souches du sérotype 0119:B14 ne sont que très exceptionnellement actifs sur des souches de ce sérotype : seuls les phages de 7 souches lysogènes ont produit un effet lytique sur 7 autres souches du même sérotype (Tableau VIII).

D'après ces résultats, on voit que les 7 phages peuvent être répartis en 4 groupes suivant leurs spectres d'activité sur les souches sensibles du sérotype 0119:B14.

###### 1er groupe

Il ne comprend qu'un seul phage, celui de la souche 6719.

Par son spectre d'activité, ce phage forme donc un groupe à part à lui seul. La souche qui le porte possède l'antigène H4. Elle a été isolée en Pennsylvanie, non de l'homme, mais du veau et elle donne à la lysotypie une image de réactions lytiques différente de celles des autres souches.

Ces conclusions sont en accord avec celles de la sérologie du phage. En effet, ce phage est entièrement distinct des autres phages de lysogénie du sérotype 0119:B14 par ses propriétés antigéniques.

Tableau VIII

Phages de lysogénie du sérotype 0119 : B14 actifs sur  
des souches du même sérotype

| Souches sensibles |                              |                     | Phages de lysogénie des souches : |       |       |               |     |       |       |       |
|-------------------|------------------------------|---------------------|-----------------------------------|-------|-------|---------------|-----|-------|-------|-------|
| Numéros           | Antigène<br>flagel-<br>laire | Chi-<br>mio<br>type | 6719                              | 13485 | 16115 | 1115755<br>H5 |     | 967 A | 16180 | 16114 |
|                   |                              |                     | H4                                | H6    | H40   | V             | N   | H6    | H32   | H8    |
| 15.766            | H6                           | 2                   | 4 pl                              | -     | -     | 6 pl          | ++  | -     | -     | -     |
| 14.001            | H8                           | 1                   | -                                 | -     | LC    | -             | -   | -     | -     | +     |
| 16.167            | H8                           | 2                   | -                                 | -     | LC    | -             | -   | -     | -     | +     |
| 18.867            | H32                          | 1                   | -                                 | <LC   | -     | +++           | <LC | +++   | +++   | -     |
| 15.664            | H-                           | 2                   | -                                 | -     | -     | -             | <LC | -     | -     | -     |
| 968 A             | H6                           | 2                   | +                                 | ++    | -     | +++           | +++ | 1 pl  | 8 pl  | -     |
| 15.379            | H6                           | 2                   | -                                 | -     | 5 pl  | -             | -   | -     | -     | -     |

N.B. Pour la signification des signes utilisés dans ce tableau,  
voir p. 25

### 2ème groupe

Il comprend les phages des souches 13485, 967 A et 16180.  
Les deux premiers proviennent de souches possédant l'anti-  
gène flagellaire H6, le 3ème, d'une souche possédant l'an-  
tigène H 32.

Ces 3 phages sont d'autre part sérologiquement différents  
entre eux.

### 3ème groupe

Ce sont les phages des souches 16115 et 16114. Il sont par-  
tiellement apparentés par leurs propriétés antigéniques.

Leurs souches ont des antigènes flagellaires différents, H40 pour la première, H8 pour la seconde.

#### 4ème groupe

Ce groupe est formé de 2 phages, tous deux libérés par la même souche, 15755, qui possède l'antigène H5. L'un donne des plages voilées et l'autre des plages nettes. La sérologie a montré que le phage donnant des plages nettes était le mutant virulent d'un phage tempéré dont les plages sont voilées.

Les 7 souches ne peuvent pas être groupées suivant leurs spectres de sensibilité aussi nettement que les 7 phages. Seules les souches 14001 (H8, chimiotype 1), et 16167 (H8, chimiotype 2) présentent à peu près la même image de réactions lytiques. Elles diffèrent par leurs types biochimiques, leurs provenances (la première a été isolée à Strasbourg, la seconde à Liège), enfin par leur lysotype (la première est sensible aux phages 4 et 6 de la lysotypie, la seconde aux phages 3 et 4 et 6). Ce sont des souches voisines, mais non entièrement identiques.

Les souches du sérotype 0119:B14 s'étant montrées trop peu sensibles aux phages de lysogénie de ce sérotype, nous avons cherché des souches révélatrices parmi d'autres Entérobactériacées. Sur les 48 souches essayées, provenant de la collection du Service des Bactériophages de l'Institut Pasteur, seules ont été retenues finalement, pour la mise en évidence de la lysogénie du sérotype 0119:B14, les souches suivantes : Shigella paradysenteriae Y6R (F. M. Burnet), E. coli K (R. Legroux), E. coli B (Demerec et Fano) et E. coli 36 (F. M. Burnet).

Mais c'est sans conteste la souche E. coli K qui s'est révélée le plus souvent et le plus constamment sensible. Sauf exceptions qui seront mentionnées, c'est donc avec cette souche que nous avons entrepris la recherche de la lysogénie et l'isolement des phages des 343 souches de notre collection.

### 3. - Hétérogénéité dans la sensibilité aux phages de lysogénie parmi la population des souches révélatrices. Choix des subcultures les plus sensibles.

Il est apparu que les 4 souches retenues en raison de leur sensibilité aux phages de lysogénie du sérotype 0119:B14 présentaient une grande hétérogénéité sous le rapport de l'aspect de leurs colonies et de la sensibilité des subcultures de ces dernières aux phages de lysogénie. Pour chacune de ces souches, il a donc été effectué des isolements de

colonies dont les subcultures ont été éprouvées par les phages de lysogénie du sérotype 0119:B14. On a retenu pour les recherches ultérieures les subcultures les plus sensibles.  
(Tableau ci-dessous)

Tableau IX

Hétérogénéité dans la population bactérienne des souches retenues pour leur sensibilité à plusieurs phages de lysogénie du sérotype 0119:B14

| Surnageants après stérilisation par le chloroforme et centrifugation des souches lysogènes |        | <u>Shigella</u><br><u>paradysenteriae</u><br>Y6 R |                | <u>E. coli K</u> |                | <u>E.coli B</u> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------|---------------------------------------------------|----------------|------------------|----------------|-----------------|
|                                                                                            |        | Grande colonie                                    | Petite colonie | Grande colonie   | Petite colonie | homogène        |
|                                                                                            |        | R                                                 | S              | R                | S              |                 |
| 1                                                                                          | 6.719  | < LC                                              | -              | < LC             | < LCV          | -               |
| 2                                                                                          | 15.106 | +++                                               | -              | -                | -              | < LCV +         |
| 3                                                                                          | 15.113 | ++                                                | -              | +                | +++            | -               |
| 4                                                                                          | 15.144 | ++                                                | -              | ++               | < LCV          | -               |
| 5                                                                                          | 15.146 | +++                                               | -              | -                | < LCV          | -               |
| 6                                                                                          | 15.147 | -                                                 | -              | ++               | ++++           | -               |
| 7                                                                                          | 15.400 | +++                                               | -              | +                | LCV            | -               |
| 8                                                                                          | 14.182 | +++                                               | -              | -                | 1              | ++++            |
| 9                                                                                          | 15.757 | -                                                 | -              | -                | ++             | -               |
| 10                                                                                         | 15.764 | -                                                 | -              | +                | +              | -               |
| 11                                                                                         | 16.114 | -                                                 | -              | LCV              | +++            | -               |
| 12                                                                                         | 16.115 | -                                                 | -              | LCV              | -              | -               |
| 13                                                                                         | 19.302 | ++                                                | -              | ++++             | ++++           | +++             |
| 14                                                                                         | 17.576 | +++                                               | -              | ++               | LC             | -               |
| 15                                                                                         | 17.582 | ++++                                              | -              | ++               | LC             | -               |
| 16                                                                                         | 17.906 | ++                                                | -              | +                | +++            | -               |
| 17                                                                                         | 20.850 | +++                                               | -              | < LCV            | < LCV          | -               |
| 18                                                                                         | 21.006 | -                                                 | -              | LCV              | -              | -               |
| 19                                                                                         | 21.008 | LCV                                               | -              | -                | LC             | -               |

N.B. - Pour la signification des signes utilisés dans le tableau, voir p.25

### Conclusions. -

Il résulte de cette expérience que, pour Sh. paradysenteriae Y6R, aussi bien que pour E. coli K, les 2 types de colonies présentent des sensibilités très différentes. Pour la souche Y6R, c'est la colonie R qui est la plus sensible, tandis que pour E. coli K, c'est la colonie S.

D'autre part, la colonie S d'E. coli K est très nettement plus sensible que la colonie R de la souche Y6R. On remarquera que la souche E. coli B est au contraire homogène. Ces résultats nous ont conduit à utiliser désormais une subculture de la colonie S d'E. coli K pour la recherche de la lysogénie. Cette subculture sera désignée sous l'étiquette de souche E. coli KS.

### 4. - Température d'incubation

Toutes les cultures en vue de la recherche de la lysogénie ont été incubées à la température optimale de 37°C.

### 5. - Temps d'incubation

Les expériences qui figurent au Tableau X montrent que le meilleur rendement en phages est obtenu par une incubation comprise entre la 6ème et la 8ème heure à 37°C. Passé ce temps, le nombre des phages libres diminue, sans doute par réadsorption sur les bactéries.

### 6. - Importance de l'inoculum

Dans toutes nos expériences pour la recherche de la lysogénie, nous avonsensemencé nos tubes de bouillon avec la même quantité de germes, que nous avons évaluée, par numérations des colonies sur gélose, à  $10^4$  bactéries par cm<sup>3</sup> de milieu.

### Conclusions. -

Bien que les titrages n'aient pu être qu'approximatifs en raison de l'extrême petitesse des plages, il apparaît que la durée optimale d'incubation pour la libération des plages de lysogénie par les 3 souches éprouvées se situe aux environs de 8 h.

Tableau X

Recherche de la durée optimale d'incubation de trois cultures du sérotype 0119:B14 pour la mise en évidence du pouvoir lysogène (culture en bouillon à pH:7.6, inoculum : 104 bactéries par cm<sup>3</sup>). Après les différents temps d'incubation, les cultures sont agitées avec du chloroforme (X gouttes pour 10cm<sup>3</sup>), puis centrifugées pendant 15 minutes à 6000t/m. Les surnageants sont titrés sur E.coli KS

| Temps<br>d'incubation<br>en heures | Titre du phage libéré par les souches d' <u>E.</u><br><u>coli</u> 0119:B14 |                     |                     |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|
|                                    | 7251                                                                       | 7618                | 7626                |
| 1                                  | 6.10 <sup>3</sup>                                                          | 2,8.10 <sup>2</sup> | 4,8.10 <sup>2</sup> |
| 2                                  | 8.10 <sup>3</sup>                                                          | 5,2.10 <sup>2</sup> | 6.10 <sup>2</sup>   |
| 3                                  | 1,6.10 <sup>4</sup>                                                        | 4.10 <sup>3</sup>   | 4,8.10 <sup>3</sup> |
| 4                                  | 6.10 <sup>4</sup>                                                          | 8.10 <sup>3</sup>   | 3,2.10 <sup>4</sup> |
| 5                                  | 1,4.10 <sup>5</sup>                                                        | 3,6.10 <sup>4</sup> | 1,2.10 <sup>5</sup> |
| 6                                  | 3,5.10 <sup>5</sup>                                                        | 6.10 <sup>4</sup>   | 3,2.10 <sup>5</sup> |
| 8                                  | 8.10 <sup>5</sup>                                                          | 8,4.10 <sup>4</sup> | 5.10 <sup>5</sup>   |
| 10                                 | 8.10 <sup>5</sup>                                                          | 7,2.10 <sup>4</sup> | 4,8.10 <sup>5</sup> |
| 12                                 | 4.10 <sup>5</sup>                                                          | 3,6.10 <sup>4</sup> | 3,2.10 <sup>5</sup> |
| 24                                 | 1,2.10 <sup>5</sup>                                                        | 3,2.10 <sup>4</sup> | 2,8.10 <sup>5</sup> |

#### B. - Fréquence de la lysogénie parmi les souches du sérotype 0119:B14

La lysogénie est la règle pour les souches du sérotype 0119:B14. La très grande majorité se sont montrées lysogènes pour E. coli KS, dans l'épreuve du surnageant des cultures tuées par le chloroforme et centrifugées. Un nombre important des cultures négatives par cette technique ont libéré du phage en cultures mixtes avec E. coli KS. Enfin, l'irradiation ultra-violette a permis de mettre en évidence la propriété lysogène de la plupart des dernières souches restées jusqu'alors négatives. Seules, un très petit nombre de souches (4) doivent être considérées comme non lysogènes ou plus vraisemblablement comme lysogènes déficientes. (Tableau XI).

## Aspect des plages des phages de lysogénie

Les plages des phages de lysogénie des souches du sérotype 0119:B14 présentaient quelques aspects différents dans leur morphologie. Le type 1, le plus fréquemment rencontré consistait en plages extrêmement petites, en piqûre d'épingle, de 1/10 de mm de diamètre, parfois difficiles à voir, même avec une loupe, toujours très difficiles à compter.

Le type 2 était formé de plages un peu moins petites, de 1/2 à 1 mm de diamètre, dont la culture secondaire était disposée en cocarde, c'est-à-dire avec un centre opaque et un liseré périphérique plus net.

Tableau XI

Fréquence de la lysogénie parmi les souches  
du sérotype 0119:B14

| Technique employée                                    | Souches détectrices |               |                 |                       |               |
|-------------------------------------------------------|---------------------|---------------|-----------------|-----------------------|---------------|
|                                                       | <u>E.coli K</u>     |               | <u>E.coli B</u> | <u>Sh.paradys.Y6R</u> |               |
|                                                       | colonie<br>S        | colonie<br>R  |                 | colonie<br>R          | colonie<br>S  |
| Chloroforme et centrifugation<br>(343 souches)        | 297<br>86,58%       | 198<br>57,72% | 131<br>38,19%   | 236<br>68,80%         | 188<br>54,81% |
| Irradiation ultra-violette<br>(46 souches)            | 34<br>9,91%         | 6<br>1,74%    | -               | 22<br>6,41%           | 19<br>5,53%   |
| Cultures mixtes avec <u>E.coli KS</u><br>(12 souches) | 8<br>2,33%          | -             | -               | 2<br>0,58%            | -             |

Au total, sur 343 souches étudiées, 4 seulement sont restées négatives sous le rapport de la lysogénie après les 3 épreuves.

Le type 3 se présentait à peu près comme le type 2, mais la culture secondaire était formée d'une nappe continue, sans liseré.

Le type 4 consistait en plages de même dimension que celles des types 2 et 3, mais ces plages étaient dépourvues de culture secondaire (plages nettes).

Pour la plupart des souches, les plages étaient toutes identiques. Mais pour quelques-unes, on pouvait distinguer des plages d'aspects différents, les unes, nombreuses, étaient du type 2 et les autres, plus rares, du type 4. Nous avons réussi à séparer ces deux types de plages et à obtenir des sérums antiphages pour chacun d'eux. Ces sérums donnaient la neutralisation croisée des deux sortes de phages. Il s'agissait donc d'un phage tempéré (plages en cocarde) et de son mutant virulent (plages nettes) - (Fig. 1 & 2).

La lyse confluyente obtenue sur gélose avec certains phages sur une culture en couche continue d'E. coli KS, a fait apparaître parfois une coloration brune assez marquée qui diffusait dans le milieu, par exemple les phages des souches 7611, 7619, 7627, 13472 et 16180. Toutes les souches productrices de ces phages possédaient l'antigène H6 et elles avaient été isolées à Strasbourg.

### C. - Différence dans le spectre d'activité des phages de lysogénie

1. - Toutes les souches étudiées dans cette expérience (45 souches) ont été choisies de manière à former un échantillonnage des antigènes flagellaires, des chimiotypes et des origines géographiques. Elles se sont toutes montrées lysogènes d'emblée, c'est-à-dire par la première épreuve, avec les surnageants de culture de 8 h. tuées au chloroforme et centrifugées, à l'exception de 2 souches qui n'ont libéré des phages que par induction au moyen des rayons U. V.
2. - Les phages libérés par ces souches, puis préparés à un titre élevé sur E. coli KS ont montré parmi eux de grandes différences :
  - a) par la morphologie de leurs plages, d'une souche à l'autre, et souvent par la présence de 2 types de plages pour une même souche ;
  - b) par leur spectre d'activité sur un choix de souches sensibles (E. coli KS, Sh. paradysenteriae Y6R, E. coli Bordet, E. coli K 12 S, E. coli Lisbonne).

D'une façon générale, la souche E. coli KS s'est montrée de beaucoup la plus sensible, ce qui confirme ce que nous

avons déjà dit plus haut. Les spectres d'activité de ces phages de lysogénie sont représentés au Tableau XII.

#### Conclusion du Tableau XII. -

On a obtenu 9 images lytiques principales. La première a été donnée par le phage de lysogénie d'une souche H4 provenant de Pennsylvanie et isolée d'un cas de diarrhée du veau (6719) ; la deuxième, par le phage de lysogénie d'une souche H5, provenant du Bas-Rhin (15755) ; la troisième, par les phages de lysogénie de 9 souches H6, provenant de Berlin, du Bas-Rhin et d'Aberdeen ; la quatrième, par les phages de lysogénie de 2 souches H6 provenant d'Aberdeen et de Strasbourg ; la cinquième, par les phages de lysogénie de 26 souches H6 provenant du Bas-Rhin, de Liège et de Berlin et celui d'une souche H32 provenant du Bas-Rhin ; la sixième, par le phage de lysogénie d'une souche H6 provenant de Berlin ; la septième, par les phages de lysogénie de 2 souches H6 provenant de Berlin ; la huitième, par les phages de lysogénie de 2 souches H6 provenant l'une de Berlin, l'autre de Lyon ; enfin la neuvième, par le phage de lysogénie d'une souche dépourvue d'antigène flagellaire, provenant du Bas-Rhin.

Il est remarquable que les phages des souches H4, H5 et H- donnent chacun une image lytique particulière, différente des images données par les phages des autres souches. Les phages des souches H6 donnent des images très variées.

Il n'apparaît aucune relation nette entre les images lytiques des phages et les propriétés biochimiques des souches qui les portent.

#### D. - Différences entre les phages de lysogénie du sérotype 0119:B14 mises en évidence par l'épreuve de l'immunité croisée des cultures secondaires.

On a fait agir sur E. coli KS ou sur E. coli B, les phages de quelques souches du sérotype 0119:B14 préparés au préalable les uns sur E. coli KS, les autres du E. coli B. Après 24 h. d'incubation, on a prélevé les cultures secondaires qui s'étaient formées à l'endroit où les gouttes de phages avaient été déposées. Ces cultures secondaires ont été repiquées plusieurs fois sur gélose inclinée. Puis, on aensemencé avec elles des plaques de gélose et on les a éprouvées par les phages correspondants. Les résultats de ce premier essai sont consignés sur le Tableau XIII.

TABLEAU XII- Images lytiques produites par les phages de lysogénie d'un choix de souches du sérotype O119:B14 sur quelques souches sensibles.

| NUMÉROS<br>des<br>IMAGES<br>LYTIQUES | NOMBRE de<br>PHAGES<br>DONNANT<br>la MÊME<br>IMAGE | ANTIGÈNES<br>H      | CHIMIO-<br>TYPES         | PROVENANCE<br>des<br>SOUCHES<br>LYSOGÈNES                           | IMAGES LYTIQUES sur les SOUCHES: |                      |                                           |                          |                     |                         |                            |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------|-------------------------------------------|--------------------------|---------------------|-------------------------|----------------------------|
|                                      |                                                    |                     |                          |                                                                     | <i>E. coli</i><br>KS             | <i>E. coli</i><br>KR | <i>Sh. para-</i><br><i>dysent.</i><br>Y6R | <i>E. coli</i><br>Bordet | <i>E. coli</i><br>B | <i>E. coli</i><br>K 125 | <i>E. coli</i><br>Lisbonne |
| 1                                    | 1                                                  | H4                  |                          | Pennsylvanie                                                        | +                                | +                    | +                                         | +                        | +                   | +                       | +                          |
| 2                                    | 1                                                  | H5                  |                          | Bas-Rhin                                                            | +                                | +                    | +                                         | +                        | +                   | +                       | -                          |
| 3                                    | 9                                                  | H6                  | 1 (3)<br>2 (5)           | Berlin (3)<br>Bas-Rhin (4)<br>Aberdeen (2)                          | +                                | +                    | +                                         | +                        | +                   | -                       | -                          |
| 4                                    | 2                                                  | H6                  | 2                        | Strasbourg<br>Aberdeen                                              | +                                | +                    | +                                         | -                        | +                   | +                       | +                          |
| 5                                    | 27                                                 | H6 (26)<br>H 32 (1) | 2 (24)<br>3 (1)<br>7 (1) | Bas-Rhin (12)<br>Liège (4)<br>Berlin (9)<br>Lyon (1)<br>Vietnam (1) | +                                | -                    | +                                         | -                        | -                   | +                       | +                          |
| 6                                    | 1                                                  | H6                  | 2                        | Bas-Rhin                                                            | +                                | +                    | +                                         | -                        | -                   | -                       | +                          |
| 7                                    | 1                                                  | H6                  | 2                        | Berlin                                                              | +                                | +                    | -                                         | -                        | -                   | -                       | -                          |
| 8                                    | 2                                                  | H6                  | 2                        | Berlin<br>Lyon                                                      | +                                | +                    | +                                         | -                        | +                   | +                       | -                          |
| 9                                    | 1                                                  | H-                  | 2                        | Bas-Rhin                                                            | +                                | +                    | +                                         | -                        | -                   | -                       | -                          |

TABLEAU XIII.- Épreuve de la résistance croisée des cultures secondaires d'*E. coli* KS et d'*E. coli* B après l'action d'un choix de phages de lysogénie du sérotype O119-B14

| IMAGES<br>LYTIQUES | CULTURES<br>SECONDAIRES               | ANTIGÈNES H<br>des SOUCHES<br>LYSOGÈNES | CHIMIO-<br>TYPES | PROVENANCE             | PHAGES de LYSOGÉNIE de SOUCHES du SÉROTYPE O119-B14<br>RÉGÉNÉRÉS sur <i>E. coli</i> KS (K) et <i>E. coli</i> B (B) |        |        |         |         |         |         |         |         |         |
|--------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|                    |                                       |                                         |                  |                        | 679/K                                                                                                              | 1506/B | 1513/K | 15144/K | 15146/K | 15147/K | 15174/K | 16113/K | 19302/B | 17906/K |
| 1                  | <i>E. coli</i> K<br>+<br>phage 6719   | H 4                                     |                  | Pennsylvanie<br>(veau) | —                                                                                                                  | ++++   | ++++   | LC      | LC      | —       | 3       | —       | —       | —       |
| 2                  | <i>E. coli</i> B<br>+<br>phage 15.106 | H 6 <sup>•</sup>                        | 2                | Berlin                 | LC                                                                                                                 | —      | —      | —       | —       | —       | ++      | LC      | ++++    | —       |
| 3                  | <i>E. coli</i> K<br>+<br>phage 15.113 | H 6                                     | 1                | Berlin                 | LC                                                                                                                 | +++    | —      | ++++    | —       | +++     | +++     | LC      | +++     | —       |
| 2                  | <i>E. coli</i> K<br>+<br>phage 15.144 | H 6                                     | 2                | Berlin                 | <LC                                                                                                                | —      | —      | —       | —       | —       | ++      | LC      | ++++    | —       |
| 4                  | <i>E. coli</i> K<br>+<br>phage 15.146 | H 6                                     | 2                | Berlin                 | LC                                                                                                                 | —      | —      | —       | —       | —       | —       | LC      | +++     | —       |
| 4                  | <i>E. coli</i> K<br>+<br>phage 15.147 | H 6                                     | 2                | Berlin                 | LC                                                                                                                 | —      | —      | —       | —       | —       | —       | LC      | +++     | —       |
| 5                  | <i>E. coli</i> K<br>+<br>phage 15.764 | H —                                     | 2                | Strasbourg             | LC                                                                                                                 | —      | —      | —       | —       | —       | —       | LC      | —       | —       |
| 6                  | <i>E. coli</i> K<br>+<br>phage 16.115 | H 40                                    |                  | Lyon                   | LC                                                                                                                 | ++++   | ++++   | LC      | LC      | ++++    | ++      | —       | ++++    | ++++    |
| 7                  | <i>E. coli</i> B<br>+<br>phage 19.302 | H 6                                     | 2                | Lyon                   | LC                                                                                                                 | +++    | —      | ++++    | —       | ++++    | ++      | LC      | —       | +++     |
| 4                  | <i>E. coli</i> K<br>+<br>phage 17.906 | H 6                                     | 2                | Mulhouse               | LC                                                                                                                 | —      | —      | —       | —       | —       | —       | LC      | ++++    | —       |

### Conclusions de l'expérience figurant au Tableau XIII.

- a) Chaque culture secondaire présente un certain spectre de sensibilité aux phages de lysogénie.
- b) Quelques-uns des spectres de sensibilité de plusieurs cultures secondaires sont identiques. Ainsi, les cultures secondaires 15106R/B et 15144R/K présentent le même spectre de sensibilité. De leur côté, les cultures secondaires 15146 R/K, 15147R/K et 17906R/K ont un spectre de sensibilité commun. Ces analogies dans les images lytiques des cultures secondaires indiquent que les phages qui les ont fait apparaître sont identiques ou apparentés.
- c) Mais certains spectres de sensibilité ne ressemblent à aucun autre. Il y a donc des souches du sérotype 0119:B14 qui, bien qu'identiques des points de vue antigénique et biochimique, libèrent des phages différents, au moins dans leur spectre d'activité.
- d) Corollairement, certaines phages de lysogénie dont les cultures secondaires montraient le même spectre de sensibilité présentent le même spectre d'activité (15106/B et 15144/K).
- e) Cependant, cette réciprocité n'est pas toujours vraie. Les 3 phages des souches 15146/K, 15147/K et 17906/K dont les cultures secondaires correspondantes avaient des spectres de sensibilité identiques ont des spectres d'activité différents.
- f) De même, certains phages qui ont le même spectre d'activité 15113/K et 15146/K correspondent à des cultures secondaires différentes dans leurs spectres de sensibilité.

On peut se demander si ces discordances ne tiendraient pas à ce que les cultures secondaires qui ont été étudiées dans cette expérience sont en réalité des mélanges, en proportions variables, de mutants résistants spécifiques et de culture primaire non résistante. Nous avons donc fait une nouvelle série d'expériences en prenant cette fois la précaution d'effectuer, à partir de chaque culture secondaire, un isolement de colonies parmi lesquelles nous en avons cherché qui fussent spécifiquement résistantes. Ces nouvelles expériences figurent au Tableau XIV.

TABLEAU XIV : Réactions croisées entre les mutants résistants d'*E. coli* KS sélectionnés dans les cultures secondaires et les phages de lysogénie qui avaient déterminé l'apparition de ces mutants.

| MUTANTS d' <i>E. coli</i> KS<br>RÉSISTANTS<br>aux PHAGES des<br>SOUCHES: |        | PHAGES de LYSOGENIE d'un CHOIX de SOUCHES du SÉROTYPE O119: B 14,<br>RÉGÉNÉRÉS sur <i>E. coli</i> KS |       |       |      |      |       |      |     |      |       |      |     |
|--------------------------------------------------------------------------|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|------|------|-------|------|-----|------|-------|------|-----|
|                                                                          |        | 1                                                                                                    | 2     |       | 3    | 4    | 5-6-7 | 8    | 9   | 10   | 11-12 | 13   | 14  |
|                                                                          |        |                                                                                                      | VIRUL | TEMP. |      |      |       |      |     |      |       |      |     |
| 1                                                                        | 6.719  | —                                                                                                    | LC    | LCV   | LCV  | LCV  | LCV   | LCV  | LC  | LCV  | +++V  | LC   | LCV |
| 2                                                                        | 15.755 | LCV                                                                                                  | LC    | —     | LCV  | <LC  | LC    | +++  | LC  | LCV  | +++V  | LC   | LCV |
| 3                                                                        | 7.629  | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | —    | LCV  | LCV   | LC   | LC  | <LCV | +++V  | LC   | LC  |
| 4                                                                        | 13.076 | <LCV                                                                                                 | LC    | LCV   | LCV  | —    | LCV   | +++V | LC  | <LCV | —     | <LC  | LCV |
| 5                                                                        | 11.235 | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | —    | —    | —     | +++  | LCV | <LCV | —     | <LCV | LCV |
| 6                                                                        | 974 A  | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | —    | —    | —     | +++  | LCV | <LCV | —     | <LCV | LCV |
| 7                                                                        | 15.379 | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | —    | —    | —     | +++  | LCV | <LCV | —     | <LCV | LCV |
| 8                                                                        | 966    | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | LCV  | —    | LCV   | —    | LC  | —    | —     | <LCV | LCV |
| 9                                                                        | 21.003 | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | <LCV | LCV  | LCV   | <LC  | —   | <LCV | —     | +++  | LCV |
| 10                                                                       | 17.575 | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | LCV  | LCV  | LC    | LCV  | LCV | —    | <LCV  | LCV  | LCV |
| 11                                                                       | 16.443 | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | LCV  | LCV  | LC    | <LCV | LC  | <LCV | —     | LCV  | LCV |
| 12                                                                       | 18.807 | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | LCV  | LCV  | LC    | <LCV | LC  | <LCV | —     | LCV  | LCV |
| 13                                                                       | 16.180 | LCV                                                                                                  | LC    | LCV   | LC   | <LCV | LC    | <LCV | LC  | <LC  | <LCV  | —    | LCV |
| 14                                                                       | 15.764 | —                                                                                                    | LC    | —     | <LC  | <LC  | LC    | LC   | LC  | <LCV | +++V  | <LCV | —   |

# Commentaires du Tableau XIV. -

- a) Sur ce tableau, le numérotage des phages (ligne horizontale : 1, 2, 3, etc...) correspond au numérotage des souches (lère colonne verticale à gauche). Par exemple, le phage 1 est le phage de lysogénie de la souche 1, dont le numéro de collection est 6719.
- b) Chaque mutant d'E. coli KS sélectionné par un phage de lysogénie est résistant à ce phage (résistance spécifique : signe encadré d'un trait épais). Il peut se montrer sensible à tous les autres phages ou bien présenter une résistance croisée à certains d'entre eux.
- c) La plupart des phages choisis par cette expérience ne donnent pas la réaction de résistance croisée entre eux, même s'ils proviennent des souches qui ont le même antigène flagellaire (H6). Ces phages sont donc différents les uns des autres, au moins par leur aptitude à sélectionner des mutants résistants. Bien que cette expérience soit limitée à un petit nombre de souches, on comprend quelle diversité de phages de lysogénie existe parmi les souches du sérotype 0119:B14.
- d) Dans quelques cas, à une souche possédant un antigène flagellaire particulier, correspond la formation d'une culture résistante particulière. Ainsi, la souche 6719, qui possède l'antigène H4, libère un phage (phage 1) dont l'action sur E. coli KS produit un mutant résistant au phage 1, mais sensible à tous les autres phages de lysogénie.
- e) Cependant, certains phages donnent la résistance croisée de leurs mutants sélectionnés. Ce sont d'abord les phages 5, 6 et 7 libérés respectivement par les souches 11235 (H6, chimiotype 2), 974A (H6, chimiotype 2) et 15379 (H6, chimiotype 2), qui forment un premier groupe, et d'autre part, celui des phages 11 et 12 libérés par les souches 16443 (H32) 18807 (H32), qui forment le deuxième groupe. Les phages 5, 6 et 7 sont donc identiques, puisqu'ils donnent la résistance croisée des mutants qu'ils sélectionnent. Pour la même raison, les phages 11 et 12 sont identiques entre eux.
- f) Ne figurent pas sur le tableau, les actions des 14 phages de lysogénie sur la souche d'E. coli KS normale. Tous produisent la lyse confluyente (LC) ou de nombreuses plages (++++).
- g) Le phage 2, libéré par la souche 15755 (H5) donne sur E. coli KS 2 types de plages, les unes voilées, (culture secondaire en cocarde), correspondent au phage tempéré, les

autres nettes, correspondent à un mutant virulent. Le phage tempéré a sélectionné un mutant résistant qui est cependant sensible au phage virulent, pour lequel il n'a pas été possible d'obtenir un mutant résistant, puisqu'il n'a pas fourni de culture secondaire. Nous verrons au chapitre consacré à la sérologie des phages de lysogénie que ces 2 phages sont sérologiquement identiques. On remarquera en outre, sur le tableau XIV, que le phage virulent libéré par la souche 15755 a lysé sans exception tous les mutants résistants à chacun des autres phages.

#### E. - Sérologie des phages de lysogénie du sérotype 0119:B14

La grande diversité des phages de lysogénie du sérotype 0119:B14, déjà mise en évidence par leurs spectres d'activité sur un certain nombre de souches sensibles appartenant soit au même sérotype, soit à d'autres sérotypes d'*E. coli*, soit encore à d'autres espèces d'Entérobactériacées, et par les épreuves de la résistance croisée, a été confirmée par les épreuves de neutralisation croisée au moyen des sérums antiphages.

Nous avons inoculé à des lapins 11 phages de lysogénie d'un choix de souches possédant divers antigènes flagellaires : H4 (1 phage, celui de la souche 6719), H5 (2 phages, isolés tous deux de la souche 15755, l'un donnant des plages claires, l'autre des plages voilées), H6 (5 phages isolés des souches 15106, 16180, 7629, 9623 et 13076), H8 (1 phage, celui de la souche 16144) H40 (1 phage, celui de la souche 16155), enfin H- (1 phage, celui de la souche 15764). (Tableau XV).

Certains phages se sont révélés d'excellents antigènes (ceux des souches 6719, 15106, 16115, 15755 virulent, 15755 tempéré, 16114, 15764 et 7629), puisqu'ils neutralisaient encore complètement le phage injecté aux dilutions de 1/1.000, 1/2.000, 1/3.000, 1/4.000 et 1/8.000.

D'autres au contraire n'ont donné que de très médiocres résultats : pour les phages des souches 16180, 9623 et 13076, possédant tous les trois l'antigène H6, il a été impossible d'obtenir, malgré les nombreux lapins injectés et l'emploi de diverses substances considérées comme des adjuvants de l'immunisation, des sérums neutralisants à une dilution supérieure à 1/10.



Sur le tableau XV, ne figure que le sérum d'un seul lapin pour chacun des phages. Lorsqu'un même phage a été inoculé à plusieurs lapins (en général, nous avons préparé 3 lapins par phage et, lorsque la réponse des anticorps neutralisants n'a pas été satisfaisante, nous avons tenté l'immunisation sur un plus grand nombre), les sérums obtenus avaient des titres de neutralisation toujours à peu près identiques.

Sur les 11 phages inoculés à des lapins, 8 ont donc fourni des sérums neutralisants ayant de bons titres et 3, des sérums inactifs ou très faibles.

Les 8 lots de sérums antiphages actifs ont été essayés sur 27 phages de lysogénie du sérotype 0119:B14. Grâce à eux, il a été possible de répartir ces phages en plusieurs groupes, distincts les uns des autres par leurs propriétés antigéniques.

- Le 1er groupe comprend les phages des souches 6719 (H4), 14178 (H6) et 20850 (H4) qui sont neutralisés complètement à la dilution limite de 1/8.000 par le sérum antiphage de la souche 7251 qui est neutralisé à une dilution moindre (1/1200). Il y a donc une identité antigénique pour les 3 premiers phages et seulement un certain degré de parenté pour le 4ème.
- Le 2ème groupe n'est formé que d'un seul phage, celui de la souche 15106 (H6) qui est neutralisé, à la dilution de 1/3.000 par le sérum homonyme. Le sérum antiphage de la souche 15106 est très faiblement actif sur le phage 16155. Cette action n'a probablement aucune signification.
- Le 3ème groupe réunit 2 phages, ceux des souches 16115 (H40) et 16114 (H8) qui sont neutralisés, à des dilutions assez élevées, par les sérums homonymes réciproques. Ils sont donc sérologiquement identiques.
- Le 4ème groupe est composé de 3 phages, à savoir les 2 phages de la souche 15755 et le phage de la souche 15764. Les 2 phages de la souche 15755 sont sérologiquement identiques puisqu'ils sont neutralisés réciproquement par leurs sérums homonymes à la dilution de 1/8.000. Le 3ème phage n'est qu'apparenté, car il est neutralisé à un taux plus faible par les sérums des 2 premiers. D'autre part, son propre sérum neutralise les 3 phages à la même dilution de 1/1.000, ce qui confirme la parenté antigénique, et, en même temps, signifie qu'il n'est pas un aussi bon antigène que les 2 autres phages.
- Le 5ème groupe ne contient qu'un seul phage, celui de la souche 7629 (H6) dont le sérum n'est actif que sur lui-même.

- Dans le 6ème groupe, probablement hétérogène, on doit provisoirement ranger les phages 16180 (H6), 9623 (H6) et 13076 (H6) dont les sérums ont été complètement ou presque complètement dénués de propriétés inactivantes, et les 13 phages sur lesquels aucun des sérums actifs n'ont exercé le moindre effet.

Ces expériences de sérologie des phages du sérotype 0119:B14 bien que très incomplètes, montrent que :

- 1°) Les phages de lysogénie de ce sérotype sont antigéniquement très divers.
- 2°) Dans certains cas, les analogies antigéniques observées entre les phages correspondent à des communautés d'antigènes flagellaires des souches qui les élaborent.
- 3°) Dans d'autres cas, pour des souches possédant le même antigène flagellaire (H6), on observe des propriétés antigéniques différentes.
- 4°) Des souches portant des antigènes flagellaires différents peuvent appartenir à un même groupe sérologique (H40 et H8, H5 et H-).

### IIIème PARTIE

#### LA LYSOTYPIC du SÉROTYPE 0119:B14

##### I. - CARACTÈRE EMPIRIQUE DE LA LYSOTYPIC PROPOSÉE

Nous avons vu plus haut que, sur un grand nombre de phages isolés de l'eau d'égout, nous ~~en~~ avons retenus 8 pour la lysotypie du sérotype 0119:B14. En faisant agir ces 8 phages, convenablement dilués, sur les 343 souches du sérotype 0119:B14 que nous possédons, il a été possible de reconnaître 16 images lytiques différentes, autrement dit 16 lysotypes.

Une remarque doit être faite avant de donner la description de chacun de ces lysotypes. Aucun des 8 phages employés n'est doué de propriétés d'adaptation comparables à celles du phage Vi II de Craigie et Yen (1938), utilisé pour la lysotypie de Salmonella typhi, ni même à celles, déjà beaucoup moindres, des phages de la lysotypie de Salmonella paratyphi B par la méthode de Félix et Callow (1943). La méthode de lysotypie du sérotype 0119:B14 que nous proposons est donc entièrement empirique. De ce fait, elle n'a certainement pas la précision et la sûreté des deux méthodes mentionnées plus haut. Mais si imparfaite qu'elle soit dans son état actuel, nous verrons qu'on a pu obtenir grâce à elle quelques résultats intéressants.

##### II. - DESCRIPTION DES LYSOTYPES (Tableau XVI)

Le lysotype 1 est sensible aux phages 4 et 5 ; le lysotype 2 au phage 3 ; le lysotype 3, au phage 4 ; le lysotype 4, aux phages 4, 6 et 8 ; le lysotype 5, aux phages 3, 4, 6 et 8 ; le lysotype 6, aux phages 3, 4 et 6 ; le lysotype 7, aux phages 4 et 6 ; le lysotype 8, aux phages 3, 4 et 8 ; le lysotype 9, aux phages 3, 7 et 8 ; le lysotype 10, aux phages 3 et 4 ; le lysotype 11, aux phages 4, 6 auxquels il réagit faiblement et aux phages 7 et 8 ; le lysotype 12, aux phages 3, 4, 6 et 7 ; le lysotype 13, au phage 1, le lysotype 14, aux phages 1, 7 et 8 ; le lysotype 15, au phage 8 ; le lysotype 16, aux phages 2, 3 et 7. Enfin, 44 souches n'étaient pas

lysotypables en raison de leur insensibilité complète ou presque complète aux 8 phages de la lysotypie.

Tableau XVI

## Lysotypie du sérotype 0119:B14

| Lysotypes | Phages de la lysotypie du sérotype 0119:B14<br>(isolés d'eau d'égout et dilués convenablement) |   |   |     |   |     |   |   |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---|-----|---|-----|---|---|
|           | 1                                                                                              | 2 | 3 | 4   | 5 | 6   | 7 | 8 |
| 1         | -                                                                                              | - | - | +   | + | -   | - | - |
| 2         | -                                                                                              | - | + | -   | + | -   | - | - |
| 3         | -                                                                                              | - | - | +   | - | -   | - | - |
| 4         | -                                                                                              | - | - | +   | - | +   | - | + |
| 5         | -                                                                                              | - | + | +   | - | +   | - | + |
| 6         | -                                                                                              | - | + | +   | - | +   | - | - |
| 7         | -                                                                                              | - | - | +   | - | +   | - | - |
| 8         | -                                                                                              | - | + | +   | - | -   | - | + |
| 9         | -                                                                                              | - | + | -   | - | -   | + | + |
| 10        | -                                                                                              | - | + | +   | - | -   | - | - |
| 11        | -                                                                                              | - | - | (+) | - | (+) | + | + |
| 12        | -                                                                                              | - | + | +   | - | +   | + | - |
| 13        | +                                                                                              | - | - | -   | - | -   | - | - |
| 14        | +                                                                                              | - | - | -   | - | -   | + | + |
| 15        | +                                                                                              | - | - | -   | - | -   | - | + |
| 16        | -                                                                                              | + | + | -   | - | -   | + | - |

III. - CONFRONTATION des RESULTATS de la LYSOTYPIE avec les DONNEES ANTIGENIQUES FLAGELLAIRES des SOUCHES et LEUR PROVENANCE (Tableau XVII).

Il apparaît, sur ce tableau, des relations intéressantes entre les images lysotypiques de certaines souches et leurs caractères antigéniques flagellaires.

Ainsi, le lysotype 1 réunit les 3 seules souches possédant l'antigène H4 de notre collection. Ces 3 souches sont d'origine américaine puisque 2 viennent du Mexique, et la 3ème de Pennsylvanie.

Le lysotype 2 n'est représenté que par la seule souche H5 en notre possession. Elle vient du Bas-Rhin.

Les lysotypes 3, 4, 5 rassemblent à eux trois la majorité des souches H6 de la collection. Ils proviennent du Bas-Rhin, de Berlin, de Lyon, de Bordeaux, de Liège et de Saïgon. Le lysotype 6 est au contraire hétérogène, puisqu'il comprend des souches H6, H8 et H32. De même, le lysotype 7 (H6, H8, H40) et le lysotype 8 (H6 et H32). Les lysotypes 9 et 10 ne se composent que des souches HC

Le lysotype 11 n'a qu'une seule souche, dont l'antigène H27 n'a été rencontré dans aucun autre lysotype.

Le lysotype 12 n'a également qu'une seule souche, H32, mais nous avons vu que l'antigène H32 serretrouve pour certaines souches du lysotype 6.

Les souches immobiles (H-) forment les lysotypes 13, 14, 15 et 16 qui ne contiennent aucune souche mobile.

Le recul et les données épidémiologiques nous manquent pour qu'il nous soit possible de nous prononcer sur la valeur pratique de cette méthode de lysotypie.

Tableau XVII

Confrontation des résultats de la lysotypie avec les données  
antigéniques flagellaires et les provenances des souches

| Lyso-<br>types | Antigènes<br>flagel-<br>laires | Provenances<br>principales<br>du lysotype | Nbre de<br>souches | Provenances<br>secondaires            | Nbre de<br>souches |
|----------------|--------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------|--------------------|
| 1              | H4                             | Mexique                                   | 2                  | Pennsyl-<br>vanie                     | 1                  |
| 2              | H5                             | Bas-Rhin                                  | 1                  |                                       |                    |
| 3              | H6                             | Bas-Rhin                                  | 136                | Berlin<br>Bordeaux                    | 12<br>1            |
| 4              | H6                             | Bas-Rhin                                  | 27                 | Berlin                                | 1                  |
| 5              | H6                             | Berlin                                    | 54                 | Bas-Rhin<br>Rhône                     | 2<br>5             |
| 6              | H6                             | Berlin                                    | 19                 | Saïgon<br>Bas-Rhin<br>Liège           | 10<br>1<br>18      |
|                | H8                             | Liège<br>Bas-Rhin                         | 1<br>1             |                                       |                    |
|                | H32                            | Bas-Rhin                                  | 1                  |                                       |                    |
| 7              | H6                             | Berlin                                    | 16                 | Bas-Rhin                              | 3                  |
|                | H8                             | Bas-Rhin<br>Rhône                         | 1<br>1             |                                       |                    |
|                | H40                            | Rhône                                     | 1                  |                                       |                    |
| 8              | H6                             | Berlin                                    | 4                  | Liège<br>Bas-Rhin<br>Sne Mme<br>Rhône | 4<br>2<br>1<br>1   |
|                | H32                            | Seine                                     | 1                  |                                       |                    |
| 9              | H6                             | Berlin                                    | 2                  |                                       |                    |
| 10             | H6                             | Liège                                     | 6                  |                                       |                    |
| 11             | H27                            | Rhône                                     | 1                  |                                       |                    |
| 12             | H32                            | Hte Garonne                               | 2                  |                                       |                    |
| 13             | H-                             | Rhône                                     | 2                  |                                       |                    |
| 14             | H-                             | Bas-Rhin                                  | 1                  |                                       |                    |
| 15             | H-                             | Bas-Rhin                                  | 1                  |                                       |                    |
| 16             | H-                             | Bas-Rhin                                  | 1                  |                                       |                    |

## IVème PARTIE

### ETUDE du POUVOIR COLICINOGENE

parmi les E. COLI 0119 : B14

#### I. - GENERALITES sur les COLICINES

Les colicines sont des particules antibiotiques de nature chimique très complexe (glucidolipidoprotéine) produites par de nombreuses espèces d'Enterobacteriaceae appartenant aux genres Escherichia, Salmonella et Shigella.

Elles tuent les bactéries après s'être fixées à leur surface au niveau d'un récepteur spécifique dont la présence chez les bactéries éprouvées, conditionne leur action létale et détermine leur spectre d'activité : les colicines n'agissent en effet, que sur certaines souches d'E. coli, de Shigella, de Salmonella, et parfois sur des bactéries appartenant à d'autres germes de la famille des Enterobacteriaceae (Hafnia, Klebsiella, Cloaca, Proteus, etc...) cette famille d'antibiotiques comprend un nombre relativement faible de types, chaque type se fixant sur le même récepteur bactérien. D'après la spécificité de leur récepteur, les colicines ont pu être réparties en une vingtaine de types, que l'on désigne par des lettres V, A, B, C, D, E1, et E2, G, H, I, J, K, et X, auxquels il convient d'ajouter quelques types non officiels. Les différents types de colicines s'individualisent d'autre part par certaines de leurs propriétés physico-chimiques respectives : ainsi, en dehors de leur récepteur de fixation commun, les colicines des types K et V se différencient des 9 autres types de colicines par leur thermo-résistance exceptionnelle (elles ne sont détruites qu'à 120°C), par leur grande diffusibilité dans la gélose et leur sensibilité marquée aux enzymes protéolytiques.

Une même souche élabore souvent 2 et même parfois 3 types de colicines. Les souches colicinogènes ne diffèrent généralement pas des souches non antibiotiques appartenant à la même espèce ; il existe, toutefois, des relations entre les propriétés biochimiques et antibiotiques des bactéries colicinogènes et le type d'antibiotique qu'elles produisent : ainsi, les E. coli peuvent synthétiser tous les types de colicine, alors que les souches de Shigella et de Hafnia élaborent habituellement le type E ; E. freundii, le type A ; les Salmonella, très souvent le type 1.

Les seuls facteurs héréditaires qui déterminent la production des colicines sont considérés actuellement, non pas comme des gènes, mais comme des épisomes (facteur colicinogène E1) ou des plasmes (Facteurs colicinogènes V, B, I), c'est-à-dire des éléments héréditaires qui peuvent se répliquer soit d'une manière transitoire dans le cytoplasme bactérien (épisome), soit d'une manière permanente dans ce cytoplasme (plasmone). Cette particularité structurale du matériel héréditaire responsable de la production d'une colicine explique la possibilité du transfert à haute fréquence du pouvoir colicinogène d'une bactérie à une autre ; en effet, certaines souches d'E. coli et de Sh. sonnei peuvent transférer leur aptitude à produire les colicines B, E1, E2, I, K à diverses autres Entérobactériacées, lorsqu'on les cultive ensemble.

Les bactéries ainsi transformées conservent toutes les propriétés qui caractérisent la souche non colicinogène initiale et n'en diffèrent que par l'acquisition de la propriété antibiotique. Le transfert de la propriété colicinogène s'effectue par la conjugaison des deux types de bactéries et cet appariement est suivi du passage d'une des répliques du facteur colicinogène présentes dans le cytoplasme de la bactérie donatrice à la bactérie réceptrice initialement non colicinogène. Ce passage se fait à l'exclusion de l'acquisition de tous les autres facteurs génétiques de la bactérie donatrice. Ce phénomène ne consiste donc pas en une recombinaison génétique ; il est évident qu'il fait intervenir des facteurs héréditaires (épisomes ou plasmes), qui se sont répliqués dans le cytoplasme de la bactérie donatrice.

## II. - FREQUENCE de la PROPRIETE COLICINOGENE dans le SEROTYPE 0119:B14, COMPAREE A celle des autres E. COLI ENTEROPATHOGENES.

Parmi les 343 souches du sérotype 0119:B14, provenant de différentes parties du monde, nous en avons trouvé 132 qui étaient douées de propriétés colicinogènes, soit 40,2 % (Voir Tableau XVIII).

Ce pourcentage est légèrement supérieur à celui qui a été observé pour le sérotype 0111:B4 (35,84 %) et beaucoup plus élevé que celui du sérotype 055:B5 (18,9 %) et 026:B6 (15,30 %) (FREDE-  
RICQ 1957 ; BAVASTRELLI, 1959 ; HAMON, 1961 ; KRAJINOVIC, 1961 ; TASPULATOV & Coll., 1962).

Il est au contraire inférieur à celui des E. coli pathogènes pour les veaux et les animaux de basse-cour (66 %) (Observations personnelles inédites).

Tableau XVIII

Fréquence de la propriété colicinogène parmi les 0119:B14

| Origine géographique | Nbre total de souches | Nbre de souches colicinogènes examinées | % de souches colicinogènes |
|----------------------|-----------------------|-----------------------------------------|----------------------------|
| Strasbourg           | 155                   | 72                                      | 45,16                      |
| Berlin               | 100                   | 28                                      | 28                         |
| Liège                | 30                    | 3                                       | 10                         |
| Aberdeen             | 13                    | 7                                       | 53,84                      |
| Saïgon               | 12                    | 1                                       | 8,33                       |
| Mulhouse             | 11                    | 11                                      | 100                        |
| Lyon                 | 11                    | 2                                       | 18,11                      |
| Glasgow              | 3                     | 3                                       | -                          |
| Toulouse             | 2                     | 2                                       | -                          |
| Mexique              | 2                     | 2                                       | -                          |
| Pennsylvanie         | 1                     | 1                                       | -                          |
| Paris                | 1                     | -                                       | -                          |
| Rouen                | 1                     | -                                       | -                          |
| Bordeaux             | 1                     | -                                       | -                          |
| Total                | 343                   | 132                                     | 40,2                       |

### III. - VARIETES DES COLICINES ELABOREES par le SEROTYPE 0119:B14

La distribution des colicines I et E dans le sérotype 0119:B14 est différente de celle qui a été observée pour les autres E. coli de G.E.I. : alors que la colicine E est très fréquente parmi les E. coli 0119:B14 (85,60 %) des souches colicinogènes, elle l'est beaucoup moins dans les sérotypes 0111:B4 (30 %) et 026:B6 (30 %) et elle est encore plus rare dans le sérotype 055:B5 (1 %). La colicine I, au contraire, dans les sérotypes 055:B5 (90 %) et 0111:B4 (38 %) est beaucoup plus fréquente que dans les sérotypes 0119:B14 (1,51 % seulement) et 026:B6. Le sérotype 0119:B14 (Tableau XIX), comme les autres sérotypes pathogènes, élabore donc les colicines thermostables E, I et B, mais il se distingue des autres sérotypes pathogènes par le fait qu'il produit en outre, quelquefois, des colicines thermostables.

Soulignons la constatation, faite par de nombreux auteurs de l'absence des colicines thermostables dans les cultures des autres sérotypes pathogènes d'E. coli. Au contraire, les E. coli de 0119:B14 produisent parfois des colicines thermostables du groupe V. Ce fait les rapproche des E. coli banaux (non pathogènes). Il est possible que la production des colicines du groupe V par les E. coli 0119:B14 soit liée à leur faible pouvoir pathogène comparé à celui des sérotypes 0111:B4, 055:B5 et 026:B6.

N. B. : Le Professeur Pierre FREDERICQ auquel nous avons envoyé nos souches pour confirmation des résultats de l'identification des colicines du sérotype 0119:B14 pense que si la souche 14190 venant de Strasbourg produit comme nous l'avons indiqué sur les Tableaux XIX et XXIV la colicine V en même temps que la colicine I, ce doit être en très faible quantité.

° ° °

(voir tableau ci-après)

Tableau 3

Principaux états colicinogènes rencontrés parmi les E.coli 0119 : B14

| Prove-<br>nance             | Nb're<br>total<br>de sou-<br>ches<br>produc-<br>trices | Types des colicines produits |      |                   |          |       |            |      |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------|------|-------------------|----------|-------|------------|------|
|                             |                                                        | thermosensi-<br>bles         |      | thermorésistantes |          |       |            |      |
|                             |                                                        | E                            | I    | V                 | V+B+E(?) | (V+I) | E+N<br>(*) | V+N  |
| Stras-<br>bourg             | 72                                                     | 68                           | -    | 1                 | 2        | 1     | -          | -    |
| Berlin                      | 28                                                     | 23                           | 1    | 3                 | -        | -     | 1          | -    |
| Mulhouse                    | 11                                                     | 8                            |      | -                 | -        | -     | 3          | -    |
| Aberdeen                    | 7                                                      | 7                            | -    | -                 | -        | -     | -          | -    |
| Glasgow                     | 3                                                      | 3                            | -    | -                 | -        | -     | -          | -    |
| Liège                       | 3                                                      | 1                            | 1    | 1                 | -        | -     | -          | -    |
| Toulouse                    | 2                                                      | 1(E1)                        | -    | -                 | -        | -     | -          | 1    |
| Mexique                     | 2                                                      | 1                            | -    | 1                 | -        | -     | -          | -    |
| Lyon                        | 2                                                      | -                            | -    | 2                 | -        | -     | -          | -    |
| Saigon                      | 1                                                      | 1                            | -    | -                 | -        | -     | -          | -    |
| Pennsyl-<br>vanie<br>(veau) | 1                                                      | -                            | -    | -                 | 1        | -     | -          | -    |
| Totaux                      | 132                                                    | 113                          | 2    | 8                 | 3        | 1     | 4          | 1    |
| Pourcentages                |                                                        | 85,60                        | 1,51 | 6,06              | 2,27     | 0,75  | 3,03       | 0,75 |

(\*) N=colicine nouvelle

#### ANNEXE AU TABLEAU XIX

Liste des souches du sérotype 0119:B14  
produisant les diverses colicines  
Strasbourg

68 souches produisant la colicine E:

H5 : 15755

H6 : 7611, 14199, 7251, 7252, 7253, 7255, 7612, 7613,  
13457, 13469, 13467, 13475, 13476, 13478, 13478, 13482,  
13485, 13486, 13487, 14202, 14201, 14201, 14197, 14196,  
14195, 14194, 14193, 14189, 14188, 14187, 14186, 14184,  
14183, 14182, 14181, 14180, 14176, 14174, 14173, 14170,  
14168, 14167, 14166, 14165, 14164, 14163, 14162, 14160,  
14159, 14156, 14153, 14152, 16094, 16093, 15767, 15766,  
15765, 15763, 15762, 15761, 15760, 15759, 15756, 15758,  
15754, 15753, 14191,

1 souche produisant les colicines V+I : 14190

1 souche produisant les colicines V+B+E (?) : 14178

H8 : 1 souche produisant la colicine V : 14001

1 souche produisant les colicines V+B+E (?) : 16892

Berlin

23 souches produisant la colicine E

H6 : 15109, 15113, 15114, 15115, 15121, 15123, 15125, 15119,  
15129, 15133, 15134, 15135, 15136, 15138, 15140, 15141,  
15160, 15385, 15399, 15384, 15381, 15380, 15379.

3 souches produisant la colicine V

H6 : 15401, 15402, 15400.

1 souche produisant la colicine nouvelle de 15387.

H6 : 15387.

1 souche produisant la colicine I.

H6 : 15376

---

Mulhouse

8 souches produisant la colicine E.

H6 : 16619, 16618, 16617, 17923, 17922, 17918, 17910, 17906.

3 souches produisant la colicine nouvelle de 15387 (colicine N)  
+ colicine E.

H6 : 16349, 17926, 17925.

---

Glasgow

3 souches produisant la colicine E.

H6 : 21006, 21007, 21008

---

Toulouse

1 souche produisant la colicine E1.

H32 : 18807

1 souche produisant la colicine de 15387 + colicine V

H32 : 16443

---

Mexique

1 souche produisant la colicine V.

H4 : 20850

1 souche produisant la colicine E.

H4 : 10776.

## Pennsylvanie

1 souche produisant la colicine V + B

H4 : 6719

---

## Liège

1 souche produisant la colicine E.

H6 : 15575

1 souche produisant la colicine I.

H6 : 9623

1 souche produisant la colicine V.

H8 : 16167

---

## Aberdeen

7 souches produisant la colicine E.

H6 : 966, 976, 977, 978, 979, 980, 981.

---

## Saïgon

1 souche produisant la colicine E.

H6 : 17131

---

## Lyon

2 souches produisant la colicine V.

H40 : 16115

H8 : 16114.

---

#### IV. - RELATION ENTRE LES PROPRIETES COLICINOGENES et LYSOGENES DES SOUCHES DU SEROTYPE 0119:B14.

Aucune relation n'a été trouvée entre les propriétés colicinogènes et lysogènes des différentes souches. Signalons cependant le fait que les phages de lysogénie libérés par les souches 6719 et 14178 sont sérologiquement identiques. En outre, ces 2 souches produisent les mêmes types de colicines (V+B+E+ (?)).

#### V. - RELATION ENTRE LES PROPRIETES COLICINOGENES, BIOCHIMIQUES et ANTIGENIQUES des SOUCHES.

Aucune relation entre ces propriétés n'a été constatée. En effet, dans les groupes de cultures présentant soit les mêmes propriétés biochimiques, soit les mêmes antigènes flagellaires, nous avons rencontré des souches colicinogènes et des souches non colicinogènes ; de même, les souches colicinogènes produisant les mêmes types de colicines appartenaient à différents chimiotypes et possédaient des antigènes flagellaires variés.

#### VI. - PROPRIETES des COLICINES ELABOREES par les SOUCHES du SEROTYPE 0119:B14.

##### a) Filtrabilité.

Les colicines ont été réparties en 2 groupes : celles qui passent à travers les bougies Chamberland L3, c'était le cas de la majorité (par exemple : 14001, 16167, 16892, 16443, 18807, etc...) et celles qui sont retenues par les mêmes bougies (par exemple : 15387, 17131, 20971, etc...).)

##### b) Résistance à la chaleur

D'autre part, les colicines du sérotype 0119:B14 se différencient entre elles d'après leur sensibilité à la chaleur. La majorité sont sensibles à la chaleur (Fig. 3) : elles sont détruites par un chauffage de quelques minutes à 100°C, alors qu'un certain nombre (Fig. 4) résistent à un chauffage à l'ébullition pendant 20 à 30 minutes (souches 20850, 15401, 15402, 15400, 14178, 14190, 14001, 16167, 16114, 16443, 16115, 15387, 16349, 17926n 17925, 16892, et 6719.)

Ces colicines se comportent, sous le rapport de thermorésistance, comme les colicines V et K, qui sont jusqu'à présent les seules colicines thermostables connues (FREDERICQ, 1948).

### c) Sensibilité aux protéases bactériennes et à la trypsine

La majorité des colicines élaborées par les souches du sérotype 0119:B14 étaient sensibles aux protéases bactériennes. Pour mettre en évidence cette sensibilité, nous avons utilisé la souche de Proteus 0X19 (FREDERICQ, 1948), comme source de l'enzyme protéolytique. Nous avons effectué des cultures mixtes en bouillon d'une souche de Proteus 0X19 , protéolytique avec plusieurs souches 0119:B14. Une culture mixte effectuée dans les mêmes conditions en présence d'une souche de Proteus 0X19 non protéolytique nous a servi de témoin. Ces deux tubes ont été placés à l'étuve à 37°C pendant 18 h. , puis les cultures mixtes ont été centrifugées et les surnageants stérilisés par 5.000 microg. /cm<sup>3</sup> de streptomycine. Le titrage de ces surnageants, effectué sur la souche E. coli K 12 S, résistante à 100.000 microg. /cm<sup>3</sup> de streptomycine (= K 12 S 100.000), nous a montré que dans le premier tube, le pouvoir antibiotiques était généralement nul, c'est-à-dire que la colicine a été détruite, tandis que, dans le tube-témoin, le titre de la colicine restait élevé (Fig. 10, 11, 12). La majorité des colicines étaient aussi détruites par la trypsine à 37°C et 45°C.

### d) Sensibilité au chloroforme

La plupart des colicines du sérotype 0119:B14 sont sensibles au chloroforme. Cette sensibilité au chloroforme est une propriété importante, car elle caractérise les colicines du groupe E (Kellenberger, 1956) : en effet, l'agitation de nos surnageants actifs avec le chloroforme provoque une diminution importante du titre de la colicine ou son inactivation complète.

### e) Spécificité des mutants résistants. Identification des colicines élaborées par les souches de 0119:B14

Au centre des zones d'inhibition provoquées par une colicine dans une culture d'E. coli K 12 S sur plaque de gélose, il se forme souvent une culture secondaire, dans laquelle on trouve des mutants spécifiquement résistants à cette colicine. Ces mutants résistants ont été obtenus dans la souche E. coli K 12 S par l'action des colicines A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, S1, S3, S4, S5, V et par celle des différentes colicines produites par les E. coli de 0119:B14. La résistance de ces mutants n'était pas toujours spécifique. En effet, il est arrivé parfois que la perte du récepteur spécifique d'une colicine donnée était associée avec la perte du récepteur correspondant à d'autres colicines. Les mutants ainsi obtenus étaient donc résistants à plusieurs colicines à la fois. Par l'étude de l'action des diverses colicines du

sérotype E. coli 0119:B14, sur cette série de mutants résistants (spécifique ou non), nous avons pu identifier les divers états colicinogènes de nos souches.

f) Sensibilité des bactéries des différentes espèces aux colicines de E. coli 0119:B14.

Nous avons recherché le spectre d'activité des diverses colicines produites par les E. coli 0119:B14, sur différentes cultures d'Enterobacteriaceae : ces cultures comprenaient des souches des sérotypes 0111:B4, 055:B5, 026:B6, 0127:B8, de Shigella, de Salmonella, d'Aerobacter et de Proteus. La majorité des souches de Shigella et de Salmonella paratyphi B étaient sensibles aux colicines produites par les souches 6719, 14178 et 16892 qui élaborent les colicines V et B. Au contraire, les souches des autres Salmonella, d'Aerobacter et de Proteus résistaient à ces différentes colicines, de même que les souches de Mycobacterium et Pasteurella pseudotuberculosis. L'action antagoniste réciproque des souches d'E. coli 0119:B14 a été éprouvée sur les 25 souches d'E. coli 0119:B14 possédant des antigènes flagellaires différents et d'origine géographique variée. Le tableau XX montre que quelques souches du sérotype 0119:B14 étaient sensibles à certaines colicines produites par d'autres souches appartenant au même sérotype.

Parmi ces souches actives sur le même sérotype, 7 d'entre elles produisaient une colicine analogue à la colicine V. Toutefois, elle était moins thermostable que la colicine V produite par la souche-type CA7 de FREDERICQ. La production de ces colicines était très inconstante. On n'en a obtenu une bonne concentration que dans une culture en bouillon après 24 h. à 37°C. Généralement, les autres colicines ont été obtenues à partir de cultures âgées de 3 heures seulement. Les propriétés diverses de ces colicines, notamment les différences de leurs spectres d'activité sur les E. coli 0119:B14 suggèrent qu'il existe en réalité plusieurs colicines différentes plus ou moins apparentées à la colicine V. Nous proposons de les appeler V1, V2, V3, etc...), puisqu'elles possèdent le même récepteur bactérien que la colicine du type V de la souche CA7, à laquelle il conviendrait de donner, bien entendu, la désignation de "colicine V1".

g) Inducibilité du pouvoir colicinogène des souches du sérotype 0119:B14.

La recherche de l'inductibilité de ces souches a été effectuée en exposant chaque culture à une irradiation d'une durée convenable (50 secondes) par les rayons U. V. (JACOB & coll., 1952). Après l'irradiation, les cultures étaient agitées au B. M. à 37°C pendant 3 heures ; puis, elles étaient centrifugu-

Tableau XX

Action antibiotique réciproque parmi les E.coli 0119:B14

| Souches colici-nogènes | Souches indicatrices de 0119:B14 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
|------------------------|----------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
|                        | 1                                | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 6719                   | -                                | - | - | - | - | - | - | - | - | +  | -  | -  |
| 10776                  | -                                | - | - | - | - | + | + | + | - | +  | -  | -  |
| 20850                  | -                                | + | + | - | - | - | - | - | - | +  | -  | -  |
| 15401                  | -                                | - | + | - | - | - | - | - | - | -  | -  | +  |
| 15402                  | -                                | - | + | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |
| 15400                  | -                                | - | + | - | - | + | - | - | - | +  | -  | -  |
| 15384                  | -                                | - | - | - | - | + | + | + | - | +  | -  | -  |
| 15378                  | -                                | - | + | - | - | - | - | - | - | +  | -  | -  |
| 14178                  | -                                | - | - | - | - | - | - | + | - | -  | -  | -  |
| 14201                  | -                                | - | + | - | - | - | + | - | - | -  | -  | -  |
| 16167                  | +                                | + | + | + | + | + | + | - | - | -  | -  | -  |
| 16892                  | +                                | + | + | + | + | + | + | - | - | -  | -  | -  |
| 16114                  | -                                | - | + | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |
| 18807                  | -                                | - | - | - | - | - | + | - | - | +  | -  | +  |
| 15387                  | -                                | - | - | - | - | - | + | - | + | +  | +  | +  |
| 16349                  | -                                | - | - | - | - | - | + | - | + | +  | +  | +  |
| 17926                  | -                                | - | - | - | - | - | + | - | + | +  | +  | +  |
| 17925                  | -                                | - | - | - | - | - | + | - | + | +  | +  | +  |
| 16443                  | -                                | - | - | - | - | - | + | - | + | +  | +  | +  |

1 - 15755

2 - 7611

3 - 15135

4 - 17575

5 - 21203

6 - 978

7 - 2097

8 - 17133

9 - 16114

10 - 17907

11 - 18807

12 - 16176

fugées et les surnageants étaient stérilisés par la streptomycine. Une culture traitée de la même façon, mais non irradiée, servait de témoin. Le titrage des surnageants stériles effectué "à la goutte" sur une culture de E. coli K 12 S rendue résistante à 100.000 microg/cm<sup>3</sup> de streptomycine, a montré que le pouvoir colicinogène de quelques souches d'E. coli 0119:B14 n'était pas inductible, par exemple, les propriétés colicinogènes de (V+B) de la souche 6719. Au contraire, la pouvoir colicinogène d'autres cultures était légèrement inductible, par exemple, le titre des colicines produites par la souche 15387 a augmenté de 3 à 5 fois par rapport au témoin, comme le montrent les figures 13, 14, 15 et 16.

#### h) Diffusibilité des colicines dans la gélose

Quelques souches colicinogènes E. coli 0119:B14 ont été ensemencées en piqûres verticales dans des plaques de gélose nutritive. Nous avons étudié la diffusion des colicines en fonction du temps d'incubation de la culture. La plupart des colicines étudiées diffusaient lentement : la zone d'inhibition avait un diamètre de 20 mm après 48 h, d'étuve à 37°C ; au contraire, les diamètres des zones d'inhibition provoquées par les colicines produites par la souche 6719 (V+B+E (?)) ne cessaient d'augmenter pendant une semaine (Fig. 5, 6, 7 et 8).

### VII. - CAS DE QUELQUES SOUCHES POLYCOLICINOGENES PARTICULIERES.

Cinq souches d'E. coli 0119:B14 (15387, 16349, 17926, 17925 et 16443) dont les propriétés biochimiques et antigéniques furent au Tableau XXI, produisent, à l'exception de la souche 16443, une colicine thermosensible (détruite à 70°C), inductible (Tableau XXII), sensible au chloroforme (KELLENBERGER, 1956), comme les colicines du groupe E avec lesquelles cette colicine thermosensible est apparentée, ainsi que l'ont démontré les expériences de résistance croisée des cultures secondaires de cette colicine et des colicines-types du groupe E.

#### a) Description d'une nouvelle colicine

En outre, ces 5 souches élaborent une nouvelle colicine thermorésistante. Cette colicine résiste à l'ébullition pendant 20 minutes (Fig. 9). Après ce temps de chauffage, son titre diminue. Elle agit sur les mutants d'E. coli K 12 S résistants aux colicines V et K (Fig. 17), ainsi que sur les cultures de K 12 S rendues productrices des colicines V et K, ce qui la différencie des colicines thermorésistantes déjà connues, c'est-à-dire les colicines V et K.

Tableau XXI

Caractères biochimiques des souches d'E.coli 0119:B14  
productrices d'une nouvelle colicine

| Caractères<br>biochimiques | Numéros des souches |                      |                      |                      |                       |
|----------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
|                            | 15387-H6<br>Berlin  | 16349-H6<br>Mulhouse | 17926-H6<br>Mulhouse | 17925-H6<br>Mulhouse | 16443-H32<br>Toulouse |
| Glucose                    | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Arabinose                  | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Adonitol                   | -                   | -                    | -                    | -                    | +                     |
| Rhamnose                   | -                   | -                    | -                    | -                    | +                     |
| Sorbose                    | +                   | -                    | -                    | +                    | -                     |
| Sorbitol                   | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Dulcitol                   | +                   | +                    | +                    | +                    | -                     |
| Mannitol                   | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Xylose                     | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Lactose                    | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Maltose                    | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Saccharose                 | +                   | +                    | +                    | +                    | -                     |
| Tréhalose                  | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Inositol                   | -                   | -                    | -                    | -                    | -                     |
| Salicine                   | +                   | +                    | +                    | +                    | -                     |
| D-Tartrate                 | -                   | -                    | -                    | -                    | -                     |
| Citrate                    | -                   | -                    | -                    | -                    | -                     |
| H <sub>2</sub> S           | -                   | -                    | -                    | -                    | -                     |
| MR                         | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| VP                         | -                   | -                    | -                    | -                    | -                     |
| Indole                     | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| Uréase                     | -                   | -                    | -                    | -                    | -                     |
| L.D.C.                     | +                   | +                    | +                    | +                    | +                     |
| P.P.                       | -                   | -                    | -                    | -                    | -                     |

Inversement, les mutants d'E. coli K 12 S résistants \* à cette colicine thermorésistante, sont sensibles aux colicines V et K. Il existe une résistance croisée spécifique entre les colicines thermostables de ces 5 souches : les mutants d'E. coli K 12 S résistants à la colicine thermostable de l'une de ces souches résistent à l'action des colicines chauffées des 4 autres souches. Toutes ces constatations démontrent que les souches 15387, 16349, 17926, 17925 et 16443 produisent une nouvelle colicine thermostable que nous proposons de désigner par la lettre N.

#### b) Propriétés générales de cette colicine thermostable

En dehors de cette thermorésistance déjà mentionnée, cette colicine ne traverse pas les bougies Chamberland L3. Elle est sensible aux protéases bactériennes et à la trypsine (Fig. 10, 11 et 12). Elle résiste à l'action inactivante du chloroforme. Comme toutes les autres colicines connues, cette colicine thermorésistante n'exerce pas son activité bactéricide aux dépens de Staphylococcus aureus, divers Pseudomonas sp., B. anitratum, Pasteurella pseudotuberculosis et divers Mycobacteria.

La nouvelle colicine thermorésistante a été éprouvée également sur de nombreuses Enterobacteriaceae. Les unes se sont montrées sensibles, en particulier des souches d'E. coli du sérotype 0111:B4 appartenant aux lysotypes Montparnasse et Sèvres (NICOLLE & Coll., 1960), quelques souches des sérotypes 055:B5, 026:B6 et 0119:B14 ainsi que diverses souches de Shigella. D'autres au contraire ont été résistantes : Aerobacter et Proteus.

Le pouvoir colicinogène correspondant à cette colicine thermostable est légèrement inductible (Fig. 13, 14, 15 et 16 et le Tableau XXII) par une exposition convenable aux rayonnements U. V. (augmentation du titre de 3 à 5 fois). Ce facteur colicinogène n'a pu, jusqu'à présent être transféré par cultures mixtes à la souche K 12 S.

La souche 16443 qui élabore une colicine identique à la colicine N des souches 15387, 16349, 17926 et 17925, produit en outre une deuxième colicine également thermostable

Cette deuxième colicine thermostable a été mise en évidence de la manière suivante :

---

\* : Les mutants de K 12 S qui résistent à cette colicine thermorésistante (de 15387) présentent une résistance non spécifique aux colicines C, F et E1+V (?) de la souche-type K30 de FREDERICQ.

Tableau XXII

Induction des colicines de la souche 15387

|                                                        | Dilutions des colicines produites<br>par la culture 15387 |     |     |      |      |       |       |        |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----|-----|------|------|-------|-------|--------|
|                                                        | p                                                         | 1/2 | 1/6 | 1/18 | 1/54 | 1/162 | 1/486 | 1/1458 |
| Colicines non chauffées culture non irradiée           | +                                                         | +   | +   | +    | +    | ±     | -     | -      |
| Colicines non chauffées culture irradiée               | +                                                         | +   | +   | +    | +    | +     | +     | -      |
| Colicines chauffées à 100°C - 10' culture non irradiée | +                                                         | +   | ±   | ±    | -    | -     | -     | -      |
| Colicines chauffées à 100°C - 10' culture irradiée     | +                                                         | +   | +   | +    | -    | -     | -     | -      |

p - surnageant non dilué

On a fait agir sur le surnageant, stérilisé par le chloroforme et chauffé à 100°C pendant 20 minutes, d'une culture de la souche 16443 sur une culture sur gélose de la souche d'E. coli K 12 S. Parmi les colonies apparues dans la zone d'inhibition, il s'en est trouvé quelques-unes qui avaient acquis la résistance à la colicine N de la souche 16443 (mutants résistants à la colicine N) et des souches 15387, 16349 et 17925, mais qui avaient gardé paradoxalement la sensibilité au surnageant chauffé à 100°C de la souche 16443. Cette constatation nous a conduit à penser que, dans ce surnageant, il devait y avoir non seulement la colicine N, mais aussi une colicine thermostable.

Cette hypothèse a été confirmée par l'expérience suivante :

Des mutants résistants d'E. coli K 12 S sélectionnés par la colicine N des souches 15387, 16349, 17926 et 17925, éprouvés par le surnageant chauffé de la souche 16443, se sont montrés sensibles, ce qui indique que la souche 16443 éla-

bore une deuxième colicine thermostable, distincte de la colicine N.

Cette deuxième colicine éprouvée sur E. coli K 12 S, détermine l'apparition de mutants résistants non seulement à elle-même, mais aussi à la colicine V des souches CA7 et K94 de FREDERICQ. On en a conclu qu'elle était identique à la colicine V. La souche 16443 produit donc le complexe colicinique (N+V).

Sur le tableau XXIII, on a indiqué les actions de la colicine V des souches CA7 et K94 de FREDERICQ, de la colicine K des souches Tr7 et K235 de FREDERICQ, de la colicine N des souches 15387, 16349, 17926 et 17925 et du complexe colicinique (N+V) de la souche 16443.

On voit que la souche K 12 S est sensible à toutes ces colicines et au complexe colicinique de la souche 16443. Le mutant d'E. coli K 12 S sélectionné par la colicine K est sensible à toutes ces colicines, mais spécifiquement résistant à la colicine K. Ceci indique qu'aucune autre souche en dehors de Tr7 et K235 ne produit la colicine K.

Nous faisons observer que le complexe colicinique de la souche 16443 agit sur le mutant R/(V+I) par sa colicine N.

La souche K94 productrice de la colicine V et le mutant de K 12 S sélectionné par ce complexe colicinique (V+I) de la souche R/(V+I) ne sont pas sensibles aux colicines V des souches CA7 et K94 ; au contraire, elles sont sensibles à toutes les autres colicines. Si le complexe colicinique de la souche 16443 agit sur les mutants R/(V+I) et sur la souche E. coli K 12 S (K94) productrice de la colicine V, c'est à cause de la présence dans ce complexe de la colicine N.

Enfin, les mutants de E. coli K 12 S sélectionnés par la colicine N des souches 15387, 16349, 17926, et 17925 et le mutant (\*) R/16443 sélectionné par la seule colicine N de la souche 16443, présentent entre eux le même spectre de sensibilité, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles aux colicines V et K et présentent une résistance croisée à leur colicine N. Si le complexe colicinique de la souche 16443 agit sur ces cinq mutants, c'est à cause de la présence de la deuxième colicine thermorésistante de cette souche (colicine V).

Le mutant d'E. coli K 12 S (x) R/16443 sélectionné spécifiquement par la colicine N de la souche 16443, rendu secondairement résistant à la colicine V de la souche type CA7 de FREDERICQ et le mutant de E. coli K 12 S (.) R/16443) sélectionné par les colicines N et la seconde colicine thermostable

de la souche 16443 montrent entre eux le même spectre de sensibilité, c'est-à-dire qu'ils sont résistants à la colicine V des souches CA7 et K94 et à la colicine N des souches 15387, 16349, 17926 et 17925 et du complexe (N+V) de la souche 16443. Si ce complexe est inactif sur ces deux derniers mutants, c'est parce que ceux-ci ont été sélectionnés par les colicines N et V, le premier en deux temps, et le second en un seul temps.

Tableau XXIII

Sensibilité des mutants de K12S résistants aux colicines de la souche 16443 et aux diverses colicines thermostables déjà connues

| Colicines portées à 100° pendant 20 mn | K12S | Mutants spécifiques |     |         |         |         |         |             |             |             |       |
|----------------------------------------|------|---------------------|-----|---------|---------|---------|---------|-------------|-------------|-------------|-------|
|                                        |      | R/K                 | K94 | R/15387 | R/16349 | R/17926 | R/17925 | (*) R/16443 | (x) R/16443 | (.) R/16443 | R/V+I |
| CA7 (col.V)                            | +    | +                   | -   | +       | +       | +       | +       | +           | -           | -           | -     |
| K94 (col.V)                            | +    | +                   | -   | +       | +       | +       | +       | +           | -           | -           | -     |
| Tr7 (col.K)                            | +    | -                   | +   | +       | +       | +       | +       | +           | +           | +           | +     |
| K235 (col.K)                           | +    | -                   | +   | +       | +       | +       | +       | +           | +           | +           | +     |
| 15387                                  | +    | +                   | +   | -       | -       | -       | -       | -           | -           | -           | +     |
| 16349                                  | +    | +                   | +   | -       | -       | -       | -       | -           | -           | -           | +     |
| 17926                                  | +    | +                   | +   | -       | -       | -       | -       | -           | -           | -           | +     |
| 17925                                  | +    | +                   | +   | -       | -       | -       | -       | -           | -           | -           | +     |
| 16443                                  | +    | +                   | +   | +       | +       | +       | +       | +           | -           | -           | +     |

(\*) = Mutant de K12S résistant à la colicine thermostable N de 16443

(x) = Mutant de K12S résistant à la première colicine thermostable N de 16443 et rendu résistant secondairement à la colicine type V de CA7 de Fredericq

(.) = Mutant résistant à la colicine N et à la deuxième colicine thermostable de 16443

# VIII. - TRANSFERT DU POUVOIR COLICINOGENE de CERTAINES SOUCHES DU SÉROTYPE 0119:B14 et E. COLI K 12 S.

Des essais de transfert (FREDERICQ, 1957) ont été effectués en mélangeant diverses cultures colicinogènes, en phase de croissance, appartenant au sérotype 0119:B14 et sensibles à la streptomycine, avec des cultures jeunes de la souche K 12 S, rendue au préalable résistante à la streptomycine. La culture mixte est alors soumise à l'agitation à 37°C, pendant une demi-heure. On ensemence ensuite des tubes de bouillon avec cette culture mixte en présence de 5.000 microg./cm<sup>3</sup> de streptomycine. Ces tubes sont mis à l'étuve à 37°C. Dans les cultures ainsi obtenues, nous avons recherché les bactéries colicinogènes en appliquant la technique de la triple couche de Gratia et coll. (1950). Dans certains cas, des colonies incluses dans la seconde couche de gélose ont produit des zones d'inhibition dans la culture en nappe continue d'E. coli K 12 S contenue dans la 3ème couche. Pour confirmer que ces colonies étaient bien formées de bactéries appartenant à la souche K 12 S et non à la souche du sérotype 0119:B14 utilisée, nous en avons étudié les propriétés antigéniques, et nous en avons recherché la sensibilité à divers bactériophages, en particulier au phage  $\lambda$  de la souche d'E. coli K 12 ( $\lambda$ ). Lorsque le transfert de la propriété colicinogène a été obtenu, ces bactéries étaient inagglutinables dans l'antisérum 0119:B14 ; en outre, elles étaient sensibles aux phages habituellement actifs sur la souche K 12 S. Toutes les colonies entourées d'une zone d'inhibition étaient donc bien des colonies d'E. coli K 12 S rendues colicinogènes.

La technique des cultures mixtes sur milieu solide contenant de la streptomycine (FREDERICQ, 1948) a été également employée, mais elle ne nous a pas donné de résultats satisfaisants. Le nombre des colonies du sérotype 0119:B14 qui ont acquis, de la souche K 12 S 100.000, la résistance à la streptomycine, était plus faible que lorsque l'on ajoutait la streptomycine dans la culture mixte en bouillon. Le transfert du pouvoir colicinogène à la souche K 12 S a pu être obtenu à partir de quelques souches colicinogènes du sérotype 0119:B14. Le titre de la colicine produite par ces souches de K 12 S rendues colicinogènes était inférieur à celui de la souche initiale d'E. coli 0119:B14. Certaines bactéries qui avaient acquis la propriété colicinogène étaient parfois devenues en même temps lysogènes. Pour d'autres, au contraire, la lysogénisation ne s'était pas produite.

Pour identifier les colicines produites par ces souches antibiotiques d'E. coli K 12 S (Tr 6719, Tr 9323, Tr 15376, Tr 14190 et Tr 14188), nous avons utilisé les souches de K 12 S productrices des colicines variées fournies par le Prof. FREDERICQ (Tr 41 qui produit la colicine E1 ; Tr 7, la colicine K ; Tr 24, la colicine B ; K94, la colicine V et Tr 21 et Tr 10, les colicines E2+1), ainsi

que les divers mutants de K 12 S résistants spécifiquement aux diverses colicines-types. Le spectre d'activité des colicines produites par chacune des souches (Tr 6719, Tr 9623, Tr 15376, Tr 14190 et Tr 14188) sur ces différentes cultures indicatrices immunes ou résistantes, nous a permis de préciser le type de colicines des cultures d'E. coli K 12 S rendues antibiotiques par transfert à partir de souches d'E. coli 119:B14 (Tableau XXIV).

Tableau XXIV

Transfert des colicines d'E.coli 0119:B14 à K12 S

| N° des souches colicinogènes | Antigènes flagellaires | Type de colicine produit | Colicines transférées à K12 S |
|------------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| 6719                         | H4                     | V et B+E (?)             | B+V (?)                       |
| 9623 et 15376                | H6.BT.2                | I                        | I                             |
| 14190                        | H6.BT.2                | V et I                   | V et I                        |
| 14188                        | H6.BT.2                | V et I                   | I                             |

Le transfert de la propriété colicinogène V (sous-type V1 identique à la colicine de la souche CA7) des souches 20850, 15401, 15402, 15400, 14001; 16167, 16114 et 16115 n'a pu être obtenu. Au contraire, le pouvoir colicinogène V1 a pu être transféré facilement à E. coli K 12 S (Fig. 18 et 19), lorsqu'il se trouve associé dans les cultures d'E. coli 0119:B14 à un second facteur colicinogène transférable (B ou I). Signalons que jusqu'à présent, on ne connaît que 2 souches colicinogènes qui soient capables de transférer le pouvoir colicinogène V : pour l'une d'entre elles, le facteur colicinogène (V) est étroitement associé au facteur de fertilité F (FREDERICQ, 1957). Nous avons vu plus haut que le transfert de la propriété colicinogène des souches 15387, 16349, 17926,

17925 et 16443 qui produisent le nouveau type de colicine thermos-table (colicine N) n'avait pu être obtenu jusqu'à présent. Les résultats ont été également négatifs, même après transfert du facteur F à ces 5 souches d'E. coli 0119:B14 parce que la souche K 12 S, additionnée des diverses souches colicinogènes, se lyse très rapidement.

Les faits rapportés ci-dessus confirment les résultats publiés par OZEKI, HOWARTH et CLOWES (1961). Ces auteurs ont constaté que le transfert du facteur colicinogène E2 ne pouvait être obtenu directement de S. typhi murium E2+ à S. typhi murium E2-, tandis que le facteur colicinogène I pouvait se transmettre directement de S. typhi murium I+ à S. typhi murium I6. Mais, si l'on cultive ensemble une souche de S. typhi murium qui possède les facteurs colicinogènes E2 et I avec une souche de S. typhi murium E2- et I-, ces deux facteurs sont transférés à cette dernière souche.

Il existe donc une potentialisation, par le facteur I, du passage du facteur E2, non transmissible lorsqu'il est seul.

De plus, les mêmes auteurs ont constaté que le facteur colicinogène I induisait les recombinaisons génétiques comme le fait le facteur F des bactéries F+.

En ce sens, on peut dire que certains facteurs colicinogènes (I et B) se comportent comme des facteurs de fertilité.

## CONCLUSIONS

- 1° - Le sérotype 0119:B14 d'Escherichia coli est l'un des agents des gastro-entérites des nourrissons. Il n'est pas aussi fréquent que les sérotypes 026:B6, 055:B5, 0111:B4 et 0127:B8 et ses manifestations sont généralement moins graves et moins contagieuses. Cependant, il est parfois responsable de véritables épidémies à mortalité élevée.
  
- 2° - Nous avons eu à notre disposition une collection de 343 souches de ce sérotype, qui avaient été soigneusement vérifiées et étudiées du point de vue des antigènes flagellaires et du point de vue biochimique par Miss Mc CALLUM, L. et S. LE MINOR et Y. CHABBERT.
  
- 3° - Toutes ces souches, à l'exception de 4 (1,18 %), se sont montrées lysogènes, le plus grand nombre (86,58 %) soit d'emblée par l'épreuve des surnageants de cultures jeunes tuées par le chloroforme, en utilisant la souche révélatrice E. coli KS qui est la plus sensible de toutes celles que nous avons essayées, soit en mettant en oeuvre l'induction de la lysogénie par l'irradiation ultra-violette (9,91 %), soit enfin, pour les souches restées négatives après les deux premières épreuves, par les cultures mixtes (2,33 %) des souches du sérotype 0119:B14 avec E. coli KS.
  
- 4° - L'épreuve de la résistance croisée des cultures secondaires aux phages de lysogénie obtenus à partir d'un certain nombre de souches du sérotype 0119:B14 a révélé :
  - a) quelques similitudes entre certains de ces phages ;
  - b) de nombreuses différences entre les autres phages.
  
- 5° - L'étude sérologique, au moyen de sérums antiphages, d'un certain nombre de phages de lysogénie du sérotype 0119:B14 a confirmé cette grande variété.

- 6° - Certaines souches libèrent deux phages distincts par la morphologie de leurs plages : les unes ont un aspect en cocarde (plages voilées), les autres sont nettes, sans culture secondaire. Pour l'une de ces souches polylysogènes, ces deux variétés de phages ont été isolées l'une de l'autre. Ils présentaient d'importantes différences dans leurs spectres d'activité, en particulier le phage à plages nettes agissait sur la culture secondaire du phage à plages voilées.
- 7° - Mais le phage à plages voilées, malgré plusieurs séparations successives, redonnait des plages nettes dès le deuxième passage sur la souche sensible.
- 8° - Les sérums antiphages obtenus par l'inoculation de ces deux phages à des lapins étaient doués de propriétés neutralisantes exactement réciproques, c'est-à-dire aux mêmes dilutions de sérums (1/8.000).
- 9° - Le phage à plages voilées a donné régulièrement la lysogénisation des cultures de la souche sensible Escherichia coli KS. Au contraire, il n'a pas été possible d'obtenir la lysogénisation d'E. coli KS au moyen du phage à plages nettes, parce que dans tous les cas les cultures étaient complètement lysées et qu'aucune culture secondaire ne se formait, même après de longs délais (plusieurs jours à l'étuve à 37°C).
- 10° - Les résultats exposés aux paragraphes 7, 8 et 9 signifient que le phage à plages nettes est un mutant virulent d'un phage tempéré produisant des plages voilées.
- 11° - Quelques-uns des phages libérés par des souches du sérotype 0119:B14 se sont montrés actifs sur d'autres souches du même sérotype. Mais, en général, les souches du sérotype 0119:B14, malgré la diversité des phages qu'elles libèrent, ne sont pas sensibles aux phages des autres souches.
- 12° - En raison de cette circonstance, il n'a pas été possible d'établir pour le sérotype 0119:B14 une lysotypie rationnelle, c'est-à-dire fondée sur la diversité des phages de lysogénie parmi les souches du sérotype, comme cela a été établi pour la lysotypie de S. typhi par la méthode de Graigie et Félix, pour S. paratyphi B par la méthode de Felix et Callow et pour la lysotypie complémentaire du lysotype A de S. typhi par la méthode de Nicolle, Pavlatou et Diverneau, par exemple.

- 13° - Une lysotypie empirique du sérotype 0119:B14 a donc été établie au moyen d'un jeu de huit phages isolés de l'eau d'égout par lequel on a pu distinguer seize images lysotypiques différentes parmi les 343 souches étudiées.
- 14° - Certaines de ces images ont été données par des souches possédant des antigènes flagellaires particuliers, notamment les antigènes H4, H5 et par des souches dépourvues d'antigène flagellaire. Mais, pour la plupart des souches possédant l'antigène H6, qui sont les plus nombreuses, on a observé plusieurs images lysotypiques, ce qui signifie que par les 8 phages de lysotypie, on peut discerner des différences entre des souches qui, sous tous les autres rapports, sont identiques entre elles. C'est là le but des méthodes de lysotypie. Il n'est pas encore possible de se prononcer sur la valeur de la lysotypie proposée, en raison de l'insuffisance des données épidémiologiques recueillies jusqu'à présent.
- 15° - Une technique personnelle pour la recherche du pouvoir colicigène (technique dite à "l'emporte-pièce") a été décrite.
- 16° - La propriété colicinogène est plus fréquente parmi les souches du sérotype 0119:B14 (40,20 %) que parmi les souches des sérotypes 026:B6 (15,30 %), 055:B5 (18,90 %) et 0111:B4 (35,84 %).
- 17° - Les colicines et complexes coliciniques élaborés ont été identifiés. Ce sont, par ordre des fréquences décroissantes les colicines et complexes : E : 85,60 % ; V : 6,06 % ; E + N : 3,03 % ; V+B+E (?) : 2,27 % ; I : 1,51 % ; V+N : 0,75 % ; V+I : 0,75 %.
- 18° - Une nouvelle colicine thermostable est décrite (colicine N) qui vient s'ajouter aux deux seules colicines thermostables connues, V et K. Cette colicine est résistante aux protéases bactériennes et le pouvoir colicinogène correspondant est inductible par les rayons ultraviolets (augmentation de 9 fois).
- 19° - Une similitude a été reconnue entre deux souches possédant l'une l'antigène H4 et l'autre l'antigène H6 sous le rapport de leur phage de lysogénie et des colicines élaborées (V+B+E?).

- 20° - Sur 132 souches reconnues colicinogènes, il en a été trouvé 17 qui élaboraient des colicines thermorésistantes (12,89 %), parmi lesquelles 13 élaboraient la colicine V, seule ou associée avec des colicines thermolabiles ; 4, la nouvelle colicine N et une, à la fois la colicine V et la colicine N. L'existence de colicines thermorésistantes n'avait jamais été signalée jusqu'à présent parmi les souches appartenant aux sérotypes entéropathogènes d'E. coli.
- 21° - Quelques souches du sérotype 0119:B14 étaient sensibles aux colicines élaborées par d'autres souches du même sérotype, mais la majorité des souches 0119:B14 n'étaient pas sensibles à ces colicines.
- 22° - La colicine V, libérée par les souches colicinogènes du sérotype 0119:B14, est produite très lentement (de 18 à 24 h, au lieu de 3 à 4 h.) et n'est pas aussi thermorésistante que la colicine V produite par la souche-type CA7 de FREDERICQ.
- 23° - Le transfert des facteurs colicinogènes à E. coli K 12 S a été obtenu à plusieurs reprises : V+B ?, à partir de la souche 6719 produisant la colicine V et le complexe B+E? ; I, à partir des souches 9623 et 15376 produisant la colicine I ; V+I à partir de la souche 14190 produisant les colicines V+I ; le facteur I a été transféré seul à partir de la souche 14188 produisant les colicines V+I.

Le transfert de la colicine V seule et de la nouvelle colicine N n'a jamais pu être obtenu. Ces faits confirment le rôle des facteurs colicinogènes I et B pour l'obtention du transfert de certains facteurs colicinogènes non transférables seuls.

- 24° - Les résultats rapportés dans ce travail montrent que, pour bien connaître une espèce bactérienne ou un sérotype, il ne suffit pas d'établir avec soin les caractères morphologiques, culturels, biochimiques, sérologiques, pathogéniques, qui sont communs à tous les échantillons de cette espèce ou de ce sérotype ou qui peuvent présenter quelques différences d'une variété à l'autre ; il faut encore préciser l'état lysogène des souches, le nombre et la qualité des phages de lysogénie qu'elles libèrent, leur spectre de sensibilité à ces phages et à une collection de phages étrangers, ainsi que l'état bactériocinogène, le nombre et la qualité des bactériocines élaborées. Ces notions présentent un grand intérêt du point de vue de la biologie générale, qui, pour les germes pathogènes, se double d'un incontestable intérêt pratique, notamment en épidémiologie.



Figure 1: dilution à  $10^{-5}$

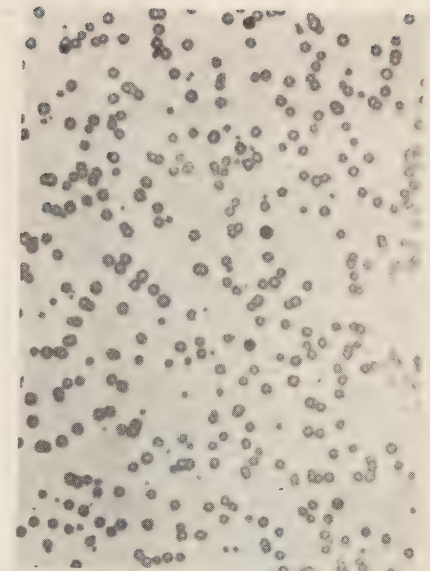


Figure 2 : dilution à  $10^{-6}$

Phages de lysogénie de la souche 6719 régénérés sur E. coli KS  
 Les phages voilés, les plus nombreuses, sont formées par le phage  
 tempéré (aspect en cocarde) et les plages nettes sont dues au mutant  
 virulent.



Figure 3

Colicine thermosensible I  
 de la souche 15370

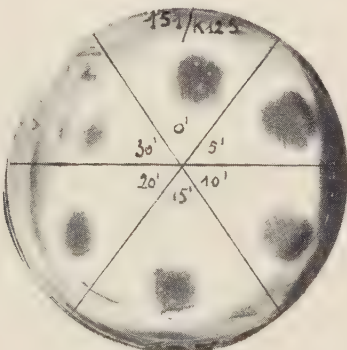


Figure 4

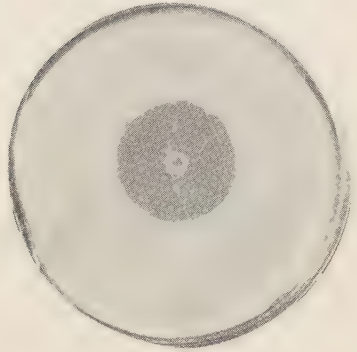
Colicine thermostable V  
 de la souche 15402



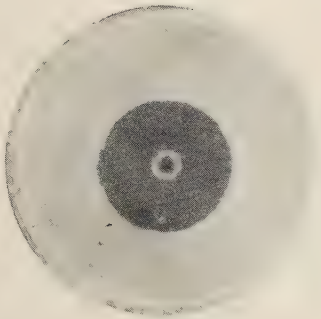
Figures



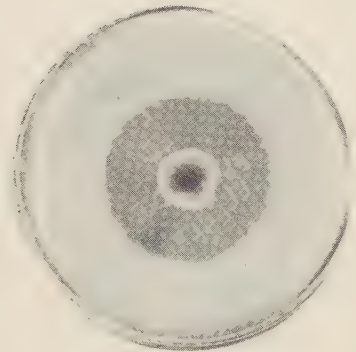
5



6



7



8

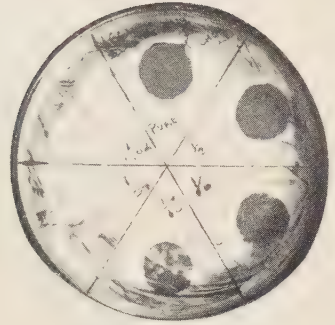
Etude de la diffusion de la colicine en fonction du temps  
(souche 6719 produisant les colicines V + B + E?)



Figures



9



10

Action de la chaleur sur la  
colicine d'E. coli 15387  
(colicine N) qui est moins  
thermostable que la colicine V



11

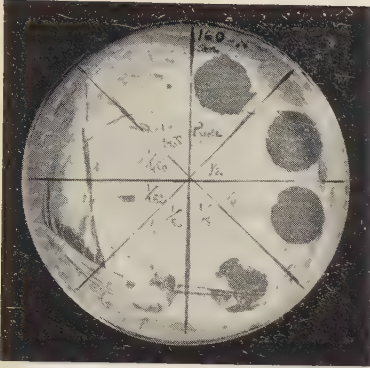


12

Fig. 10, 11, 12 : sensibilité des colicines d'E. coli aux protéases  
microbiennes : souche 15387 produisant à la fois la colicine E sen-  
sible aux protéases et la nouvelle colicine N non sensible.



Figures



13



14

surnageant non chauffé  
(colicines E et N)



15  
U.V.



16  
U.V. +

surnageant chauffé  
(colicine N)

Inductibilité des colicines de la souche 15387 élaborant la colicine E (thermosensible) et la colicine N (thermorésistante).





Figure 17

Action de la colicine K et de la colicine thermostable de la souche 15387 (chauffée à 100° - 10') sur les mutants spécifiques de la colicine K (différenciation avec la colicine K).

CA 18  
(1 . B)

CA 23  
(2 . D)

CA 42  
(3 . F)

CA 57  
(4 . C)

K2 35  
(5 . K)

CA 53  
(6 . I)

CA 38  
(8 . E)

CL 10  
(7 . H)

CA 62  
(9 . J + I)

CA 7  
(10 . V)

Tr 41  
(11 . El)

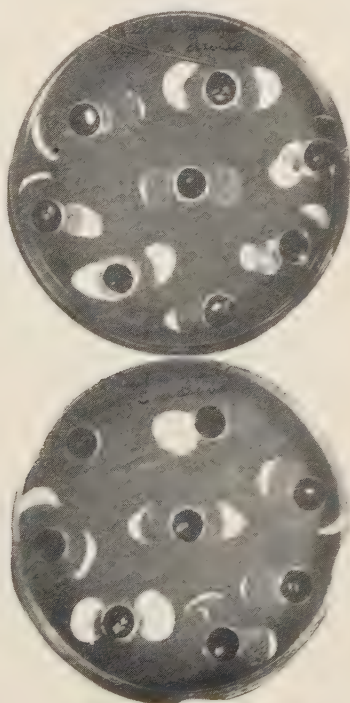
Tr 7  
(12 . K)

Tr 21  
(13 . E2 + I)

Tr 24  
(14 . B)

Tr 10  
(16 . E2 + I)

K 30  
(15 . El + V?)



Figures 18 et 19

Identification du pouvoir colicinogène de la souche 14190 (colicine V + I) transféré à la souche K12S par notre technique personnelle dite "à l'emporte pièce".



## BIBLIOGRAPHIE

ADAMS M. H.

Bactériophages

Interscience. Publishers, Inc. N. Y. 1959

AMOYA I.

Studies on the pathogenic E. coliI - Distribution of pathogenic E. coliII - Infantile diarrheal disease and isolation rate of pathogenic E. coli in a suckling's homeIII - A mass incidence of pathogenic E. coli 026 in an asylum of Utsunomiya city.J. Jap. Ass. Infect. Dis. 1960, 33 (11) 1004-22

BANERJEE A., CHATTERJI D. N. et PRAMINIK K.

Studies on the bacteriology of gastro-enteritis in infants and older age group with particular reference to certain serotypes of E. coli.Ann. Biochem. Exp. Med. 1956, 16, 49-56

BAVASTRELLI L.

Ricerche sulle proprietà colicinogene e sulla sensibilità a varie colicine di stipiti di colibacilli isolati da gastroenteriti infantili.

Riv. Ist. Sier. Ital. 1959, 34, 172-173

BRAY J.

Isolation of antigenically homogeneous strains of Bact. coli neapolitanum from summer diarrhea of infants.<sup>1</sup>J. path. Bact. 1945, 57, 239

CHAMBON L.

Recherches sur l'infection par des souches d'E. coli pathogènes à Saïgon.Bull. soc. Path. Exotique 1955, 48, 296-298

COETZEE J. N. et PRETORIUS H. P. J.

Endemic infantile gastro-enteritis in the Pretoria

area. The aetiological role of E. coli.  
S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 1955, 1 (3) 188- 196

COOPER M. L., WALTERS E. W. et KELLER H. M.

Escherichia coli associated with infantile diarrhea.  
Ann. N.Y. Acad. Sc. 1956, 66, 78 - 89

CRAIGIE J. et YEN C. H.

The determination of types of B. typhosus by  
 means of preparation of type II VI phage.  
Canad. Publ. Hlth. 1938, 29, 448

EWING W. H.

Enteropathogenic Escherichia coli serotypes.  
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1956, 66, 61-70

EWING W. H., TATUM H. W; et DAVIS B. R.

Publ. Hlth Lab. 1957, 15, 118

FELIX A. et CALLOW B. R.

Typing of paratyphoid B bacilli by means of Vi  
 bacteriophage.  
Brit. Med. J., 1943, 2, 127-130

FERGUSON W. W. et JUNE R. C.

Experiments on feeding adult volunteers with E. coli  
 0111:B4, a coli form organism associated with in-  
 fant diarrhea.  
Am. J. Hyg. 1952, 55, 155-169

FREDERICQ P

Actions antibiotiques réciproques chez les Entero-  
bacteriaceae.  
Rev. Belg. Path. Med. Exp. 1949, suppl. 4.1

FREDERICQ P

Colicins  
Ann. Rev. Microbiol. 1957, 11, 7-22

FREDERICQ P. BETZ-BAREAU M. et NICOLLE P.

Typage des souches d'E. coli de gastro-enterite in-  
 fantile par recherche de leurs propriétés colicino-  
 gènes  
C.R. Soc. Biol. 1956, 150, 2039-2042

GAMBLE D.R. et ROWSON K.E.

The incidence of pathogenic E. Coli in routine faecal specimens.

Lancet. 1957, 273 (2) 619 - 621

GILES C. et SANGSTER G.

An outbreak of infantile gastro-enteritis in Aberdeen : Association of special type of B. coli with the infection.

J. Hyg. 1948, 46, 1

GLANTZ P.

Bacteriological and serological studies of Escherichia coli serotypes associated with calf scours.

Dissertation Abst. 1948, 19/6, 2 p

GRATIA A., FREDERICQ P., JOIRIS E., BETZ-BAREAU M et WEERTS E.

La technique de la double couche de gélose et la distribution des germes producteurs de colicines dans les matières fécales normales et pathologiques de l'homme et des animaux.

Ant. von Leeuwenhoek, 1950, 16, 31-37

HAMON Y.

Colicines et lysotypie.

Zbl. Bakt. I.O. 1961, 181, 456

HIROKI F.

Biological and immunological studies on the pathogenic coli 0112 and 0119 detected in Japan

Hirosaki, Med. J. 1961, 12(4) 666-681

HUGH-JONES K. et ROSS G.I. M.

Epidemics of gastro-enteritis associated with E. coli 0119 infection.

Arch. Dis. Child. 1958, 33, 543-551

JACOB F., SIMINOVITCH L. et WOLLMAN E.

Sur la biosynthèse d'une colicine et sur son mode d'action.

Ann. Inst. Pasteur. 1952, 83, 295-315

KAUFFMANN F.

Enterobacteriaceae  
Munksgaard Edit. Copenhagen, 1951

KAUFFMANN F et DUPONT A

Escherichia strains from infantile epidemic gastro-  
enteritis.  
Acta Path Microbiol. Scand. 1950, 27, 552

KELLENBERGER G. et E.

Etude des souches colicinogènes au microscope  
electronique.  
Schweiz. Zeit. Allg. Path. Bakt. 1956, 19, 582-597

KRAJINOVIC S.

Contribution à l'étude de l'activité colicinogène  
des souches d'E. Coli entéropathogènes.  
Vojn. Sanit. Pregl. 1961, 18(10) 857-862

LEVY J. M.

Les Escherichia coli dans l'étiologie des dyspepsies.  
Conséquences thérapeutiques.  
Strasbourg Méd. 1959, 10, 405-406

LUTZ A., GRAD Ch et BASS J. P.

Sur la fréquence et la diversité d'entérobacteries  
pathogènes isolées dans le département du Bas-  
Rhin en 1958.  
Strasbourg Méd. 1959, 10, 654-661

LWOFF A., SIMINOVITCH L. et KJELDGAARD N.

Induction de la production de bactériophages chez  
une bactérie lysogène.  
Ann. Inst. Pasteur 1950, 79, 15-59

Mc CALLUM M., LE MINOR L. et S. et CHABBERT Y.

Etude des caractères biochimiques et antigéniques  
des E. Coli 0119:B4 et de leurs antibiotypes pré-  
dominants.  
Ann. Inst. Pasteur. 1961, 101, 898-913

LE MINOR S.

Etude bactériologique d'Escherichia coli isolés au  
cours de gastroenterites infantiles.  
Thèse de Pharmacie, Université de Paris 1953

LE MINOR L.

Le diagnostic de laboratoire des Entérobactéries  
Ed. de la Tourelle, Saint Mandé (Seine).

NICOLLE P., LE MINOR L. et S., HAMON Y. et BRAULT G.

La valeur de la lysotypie de quelques sérotypes  
d'Escherichia coli pathogènes pour les nourrissons.  
Arguments bactériologiques et géographiques.  
Rev. Hyg. Med. Soc. 1960, 8, 523-562

ØRSKOB I. et F.

The H. antigen of the K 12 strain. A new E. coli H  
antigen : H48.  
Acta Path. Microbiol. Scand. 1960, 48, 47

OZEKI H; HOWARTH S. et CLOWES R.C.

Colicine factors as fertility factors in bacteria.  
Nature, 1961, 190, 986-88

QUILLIGAN J.J., BIDDLE M. (Jr), DEDRICK J.W. et coll.

Recovery of enteropathogenic types of E.coli from  
infants with diarrhea.  
Am. J. Dis. Child. 1957, 93, 420-424

RANTASALO I;

Some E.coli serotypes (025, 086, 0119, 0125, 0126,  
0127, 0128) Their significance in the etiology of  
infantile gastro-enteritis in Finland.  
Ann. Pediat. Fenn. 1959, 5, 220-223

REES T. A.

Studies on Escherichia coli of animal origin.  
III - E. coli serotypes from pigs.  
J. comp. Path. 1959, 69, 334-338

SACREZ R., LEVY J. M.<sup>1</sup>, MINCK R. et POIRIER G.

Infections enterales a Escherichia coli 0119:B14  
chez le nourrisson.  
Strasbourg Méd. 158, 9, 465-471

SMITH J.

The association of certain types ( $\alpha$  et  $\beta$ ) of Bact.  
coli with infantile gastro-enteritis.  
J. Hyg. 1949, 47, 221-226

SMITH J.

The association of serological types of B.coli with infantile gastro-enteritis.

J. Path. Bact. 1953-66, 503-511

TASPULATOV R. Ju et coll.

Colicinogénie des E.coli pathogènes et non classés (en russe).

J. Mikrobiol. Epid. Immunobiol. 1962, 12, 115

TAYLOR J., POWEL B.W. et WRIGHT J.

Infantile diarrhea and vomiting (clinical and bacteriologic investigation),

Brit. Med. J. 1949, 24, 997

TAYLOR J. et CHARTER R.E.

The isolation of serological types of B.coli in two residential nurseries and their relation to infantile gastro-enteritis.

J. Path. Bact. 1952, 64, 715

WRAMBY G.

Investigations into the antigenic structure of Bacterium coli isolated from calves.

Appelbergs Baktryckeriaktiebolog. Uppasala 1948

DEUXIÈME THÈSE

---

Propositions données par la Faculté

"Les épisomes".

Vu et approuvé :

Paris, le ..... 1<sup>er</sup> JUIN ..... 19 63

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie  
de Paris,

Jean ROCHE





